

STUDIEN ÜBER DIE ENZYMATISCHEN SPALTUNG VON GALAKTOSIDEN (III)*

Von

Kazutosi NISIZAWA, D. Sc, **

Mit 42 Figuren und 155 Tabellen

Inhaltsübersicht

| | Seite |
|--|----------|
| Vorbemerkung | 1 (213) |
| I. Weiteres über das Verhalten von β -Galaktosidasen verschiedener Herkunft gegenüber den β -d-Galaktosiden mit verschiedenen Aglykonen..... | 2 (214) |
| II. Hemmungsversuche mit Zuckern und ihren Derivaten. | 13 (225) |
| III. Fraktionierungsversuche an einigen β -Galaktosidasepräparaten verschiedener Herkunft. Ein Beitrag zur Frage der Glykosi- dase-typen. | 19 (231) |
| IV. Spezifität der β -Galaktosidasen von Hepatopankreas der Schnecke, <i>Eulota peliomphala</i> | 39 (249) |
| V. Affinität der β -Galaktosidasen verschiedener Herkunft zu einigen β -Galaktosiden mit verschiedenen Aglykonen. | 48 (260) |
| Literaturen | 73 (285) |

Vorbemerkung

Die vorliegenden Mitteilungen stellen im wesentlichen eine Fortsetzung derjenigen dar, welche im Jahre 1942 in "Science Reports of Tokyo Bunrika Daigaku" als I und II Mitteilung¹⁵⁾¹⁶⁾ veröffentlicht wurden. Die Versuchsergebnisse, die damals wegen Weltkriegs II noch unveröffentlicht blieben, liegen zusammen mit den danach erhaltenen in diesen Mitteilungen vor. Sie wurden an "Symposia on Enzyme Chemistry" in Tokyo am 30. Oktober, 1948 vortragen.

An dieser Stelle erlaube ich mir, meinem verehrten Lehrer Herrn Prof. Dr.

* Aus dem Chemischen Laboratorium der Textil- und Seidenbauwissenschaftlichen Fakultät an der Universität Shinshu.

** Professor an der Universität Shinshu.

T. Miwa an der Tokyo Universität für Literatur und Wissenschaft (Tokyo Bunrika Daigaku), für die freundliche Leitung und eifrige Anteilnahme zu dieser Arbeit meinen herzlichsten Dank auszusprechen. Auch der Textil-Fakultät zu Ueda und besonders dem Institut für Textilchemie derselben bin ich für die gütige Unterstützung zu Dank verbunden.

I. Weiteres über das Verhalten von β -Galaktosidasen verschiedener Herkunft gegenüber den β -d-Galaktosiden mit verschiedenen Aglykonen.

Es ist von T. Miwa ⁸⁾⁹⁾ und Mitarbeitern gezeigt worden, dass das Aktivitätsverhältnis, das die aus verschiedener Quellen gewonnenen Fermentpräparate gegenüber den β -d-Glucosiden mit verschiedenen Aglykonen ergeben, je nach der Fermentherkunft mehr oder weniger stark schwankt. Als Ursache hierfür ist in erster Linie die Verschiedenheit in der Struktur jeder β -Glucosidase in Betracht gezogen worden.

Bezüglich der β -Galaktosidase¹⁵⁾ verschiedener Herkunft erwies sich das Aktivitätsverhältnis jeden präparates gegenüber β -d-Galaktosiden von Phenol, o- und p-kresol sowie Vanillin zumeist als nicht so erheblich schwankend wie bei der β -Glucosidase, wobei die Fermentpräparate aus *Prunus*- und *Cycas*-Samen die Ausnahme darstellten.

In der vorliegenden Arbeit, wurde nun versucht, zu prüfen, ob derselbe Sachverhalt auch bei den anderen β -d-Galaktosiden mit verschiedenen Aglykonen ebenfalls vorliegt oder nicht.

Zur Ermittlung des Aktivitätsverhältnisses, wurden insgesamt 15 verschiedene β -Galaktoside herangezogen, von denen 12 das phenolische Aglykon und 3 das alkoholische führten. Vergleichsweise wurde auch die β -glucosidatische Aktivität mit Phenol- β -d-glucosid als Substrat ermittelt. Die Enzymlösungen wurden aus 16 verschiedenen Quellen bereitet, die die Samen von höheren Pflanzen, Pilzen und Bakterien sowie auch tierische Gewebe umfassten.

Die Bedingungen der enzymatischen Reaktionen und die Bestimmungsmethode sind ganz dieselben wie bei der ersten Mitteilung. Zwei β -d-Galaktoside von Salicylaldehyd und Isoeugenol wurden, wegen geringer Löslichkeit, in Form einer Suspension zur Reaktion verwendet.

Tabelle I.

Aktivitätsverhältnis von β -Galaktosidasen verschiedener Herkunft gegenüber 15 β -Galaktosiden.

(Die Aktivität für Phenol- β -d-galaktosid ist als 1 gesetzt.)

| Nr. | Herkunft des Enzyms | β-d-Galaktosid von | | | | | | | | | | | β-Glucosid von | | | | |
|-----|---|--------------------|----------|----------|----------|---------|-----------------|-----------------|------------------|----------|-----------------|---------------|----------------|---------------|----------|----------|-----------|
| | | Phenol | o-Kresol | p-Kresol | m-Kresol | Gatakol | *Salicylaldehyd | Methylsalicylat | p-Oxyacetophenon | Vanillin | Isosäurealdehyd | 1,3,5-Xylenol | | p-Nitrophenol | Methanol | Propanol | n-Butanol |
| 1 | <i>Prunus armeniaca</i> | 1 | 16.0 | 0.60 | 3.61 | 2.16 | 8.04 | 0.36 | 2.21 | 46.3 | 0.39 | 6.73 | 25.0 | 0.06 | 0.70 | 0.55 | 7.40 |
| 2 | <i>Cycas revoluta</i> | 1 | 9.00 | 0.85 | 1.64 | 2.00 | 5.10 | 0.18 | 3.05 | 20.0 | 0.34 | 2.30 | — | 0.51 | 3.64 | 1.24 | 4.20 |
| 3 | <i>Sesamum indicum</i> | 1 | 0.84 | 0.92 | 0.88 | 0.56 | 0.75 | 0.24 | 0.81 | 0.73 | 0.41 | 0.94 | 1.03 | — | — | — | 0.16 |
| 4 | <i>Glycine hispida</i> | 1 | 0.80 | 1.10 | 0.89 | 0.56 | 0.94 | 0.31 | 1.10 | 1.11 | 0.94 | 1.04 | 1.26 | — | — | — | — |
| 5 | <i>Zea mays</i> | 1 | 0.98 | 1.13 | 1.21 | 0.58 | 0.93 | 0.46 | 1.04 | 1.05 | 0.96 | 1.30 | 1.31 | — | — | — | — |
| 6 | Takadiastase | 1 | 0.99 | 1.22 | 1.39 | 0.79 | 0.65 | 0.17 | 1.02 | 0.83 | 0.74 | 1.45 | 1.22 | 0.09 | 0.42 | 0.28 | 0.55 |
| 7 | <i>Aspergillus niger</i> | 1 | 1.24 | 0.92 | 1.66 | 0.93 | 0.95 | 0.22 | 1.35 | 0.99 | 1.10 | 2.30 | 1.83 | 0.12 | 0.43 | 0.24 | 25.4 |
| 8 | Mutterkorn | 1 | 0.99 | 0.86 | 1.37 | 0.98 | — | — | 0.64 | — | — | — | — | 0.07 | 0.15 | 0.10 | 16.6 |
| 9 | <i>Polypholus sulphureus</i> | 1 | 1.23 | 0.80 | 1.36 | 1.03 | 1.20 | 0.60 | — | 1.35 | 1.10 | 1.30 | — | 0.045 | 0.19 | 0.16 | 1.20 |
| 10 | <i>Irpex lacteus</i> | 1 | 1.22 | 1.38 | 2.17 | 1.42 | 1.12 | 0.46 | 1.58 | 0.99 | 1.67 | 2.72 | 1.07 | 0.11 | 0.50 | 0.53 | 1.71 |
| 11 | <i>Coremiella sp.</i> | 1 | 0.73 | 1.15 | 2.20 | 0.80 | 0.52 | 0.21 | 0.58 | 0.46 | 1.30 | 3.00 | — | 0.075 | 0.31 | 0.30 | 14.0 |
| 12 | <i>Bac. coli</i> | ** | 1 | 1.24 | 0.41 | — | 1.93 | — | 0.24 | 3.26 | 11.4 | 4.00 | 3.78 | 2.24 | 0.71 | — | — |
| 13 | Schneckenhepatopankreas | 1 | 1.18 | 1.18 | — | 0.62 | 1.42 | 0.62 | 1.36 | 1.45 | 0.54 | 0.72 | — | 0.03 | 0.12 | 0.08 | 2.30 |
| 14 | Schweinleber | 1 | 1.62 | 1.52 | 1.70 | 0.19 | — | — | 5.65 | — | — | — | — | ? | ? | 0.09 | 8.34 |
| 15 | Ochsenleber | 1 | 1.14 | 1.31 | 1.15 | 0.10 | 3.91 | 0.05 | 3.91 | 4.87 | 0.46 | 1.00 | 2.51 | — | — | — | 4.55 |
| 16 | Kulturlösung von <i>Corticium centrifugum</i> | 1 | 1.64 | 1.04 | 1.33 | 1.60 | — | — | 1.05 | 1.13 | 1.65 | 1.52 | — | — | — | — | 8.65 |

* Als Suspension. **Die Verhältnisswerte wurden von M. Hashimoto beobachtet.

In diesen Resultaten fällt es uns zunächst auf, dass eine weitgehende Parallellität in dem Aktivitätsverhältnis zwischen Aprikosen und *Cycas*-enzym besteht, nämlich bleibt die relative Spaltungsgeschwindigkeit von jedem phenolischen β -Galaktoside bei beiden Fermentarten fast gleich gross. Es ist jedoch wohl nicht ohne weiteres möglich, über die Identität beider β -Galaktosidasen etwas sicheres aussagen, denn es gibt auch ein deutlicher Unterschied zwischen beiden Fermenten in Bezug auf das Aktivitätsverhältnis der alkoholischen beiden Fermenten in Bezug auf das Aktivitätsverhältnis der alkoholischen β -Galaktoside. So wird z. B. Methanol- β -d-galaktosid durch das Aprikoseferment etwa $1/20$ so langsam gespalten wie Phenol- β -d-galaktosid, während das *Cycas*ferment dasselbe Substrat verhältnismässig schneller, wie etwa mit einer Geschwindigkeit von $1/2$ zum Phenol- β -d-galaktosid, spaltet. Hierbei erscheint es uns besonders bemerkenswert, dass Aktivitätsverhältnis gegenüber verschiedenen β -Galaktosiden von Aprikose- und *Cycas*ferment, mit einigen Ausnahmen wie Salicylaldehyd-, Methylsalicylat- und Isoeugenol- β -galaktosid, in grossen Zügen dasselbe ist wie der Wirkungsquotient gegenüber entsprechenden β -Glucosiden. Bezüglich des Aktivitätsverhältnisses der β -Glucosidase von Aprikose- und *Cycas*ferment sei es auf die von T. Miwa¹⁰⁾ und Mitarbeitern ausgeführten Arbeiten verwiesen. Allerdings erscheint diese Tatsache insofern beachtenswert als wir uns der Schlussfolgerung von B. Helferich⁵⁾ erinnern, dass β -Glucosidase und β -Galaktosidase von Süssmandelemulsin ein und dasselbe Enzym darstellen.

Bei den Fermentpräparaten aus den Samen anderer höherer Pflanzen (Nr. 3, 4, 5,), den Pilzen (Nr. 6, 7, 8, 9, 10, 11, 16) sowie auch dem Hepatopankreas der Schnecke (Nr. 13) erscheint der Sachverhalt etwas anders, indem das Aktivitätsverhältnis gegenüber den phenolischen β -Galaktosiden nur wenig schwankt. Nämlich scheint die chemische Natur des Aglykons bei diesen Fermentpräparaten auf die Spaltungsgeschwindigkeit keinen wesentlichen Einfluss auszuüben.

Die Enzyme aus *Bac. Coli communis* (Nr. 12) und Ochsenleber (Nr. 15) sind auf Grund der Hemmungsversuchen sowie des Verhaltens gegenüber phenolischen β -Galaktosiden von Akamatsu und Mitarbeitern⁶⁾⁷⁾ dem Emulsin-

Typ zugeteilt worden. Bezüglich des Verhaltens gegenüber dem Vanillin- β -galaktosid scheinen diese beiden Enzyme wohl dem *Prunus*-emulsin (Nr. 1) nahezustehen, verhalten sie sich jedoch ganz anders gegen den Isoeugenol- oder Guajakol- β -Galaktosid. Demnach erscheint es nicht statthaft, diese Fermente ohne weiteres mit dem *Prunus*-emulsin zu identifizieren. Das Ferment aus Schweinleber scheint, solange es aus unsern Versuchsergebnissen hervorgeht, sich von demjenigen der Ochsenleber kaum zu unterscheiden.

Versuche

A. Substrat.

Synthese einiger neuen β -Galaktoside, die in dieser Arbeit verwendet wurden, wurden, war an andere Stelle beschrieben.¹⁴⁾

B. Fermentpräparate.

Präparate Nr. 1- Nr. 11 wurden ganz in derselben Weise wie bei der I Mitteilung bereitet.

Nr. 12. *Bac. Cöli communis*. "Nomura"-Stamm, geliefert von Prof. Yasaki an der Jikeikwai medizinischen Akademie. Fermentlösung wurde von M. Hashimoto nach Vorschrift von K. Horikoshi⁵⁾ hergestellt.

Nr. 13. Schneckenhepatopankreas (*Eulota peliomphala pheiffer*).

Nr. 14. Schweinleber.

Aus dem Acetonpulver, wurden die Fermentlösungen in derselben Weise wie aus dem Samenpulver hergestellt.

Nr. 15. Ochsenleber. Die an der Fleischhackmaschine zerriebene frische Ochsenleber wurde unter Zusatz der doppelten Menge von Wasser und etwas Toluol bei 30° der Autolyse unterworfen. Nach etwa 3 Tagen kolierte man das Autolysat durch Tuch, die erhaltene trübe Lösung durch Zentrifugieren geklärt und im Cellophanschlauch dialysiert.

Nr. 16. Die kulturlösung von *Corticium centrifugum*.

Der Pilz wurde 7 tagelang in dem Malzextrakt bei 30° kultiviert. Die von der Pilzdecke abgetrennte Lösung wurde unter vermindertem Druck bei 30-33° konzentriert und dann im Cellophanschlauch dialysiert.

Protokolle

Tabelle 2.

Versuch mit dem Fermentpräparat Nr. 1, (Aprikose-emulsin).

| Substrat: β -Galaktosid von | t Min. | Spaltung % | ³ 10. K | Mit- tel | Verh- ältnis |
|--------------------------------------|-----------|---------------|-----------------------|-------------|-----------------|
| Phenol | 66 | 28.8 | 2.235 | 2.28 | 1 |
| | 80 | 36.3 | 2.440 | | |
| | 130 | 49.7 | 2.295 | | |
| | 180 | 59.0 | 2.151 | | |
| m-Kresol | 25 | 41.3 | 9.254 | 8.26 | 3.61 |
| | 50 | 61.1 | 8.020 | | |
| | 82 | 75.7 | 7.492 | | |
| P-Oxyacetophenon | 17 | 18.9 | 5.35 | 5.05 | 2.21 |
| | 34 | 33.0 | 5.11 | | |
| | 54 | 44.2 | 4.70 | | |
| Guajakol | 20 | 23.5 | 5.82 | 4.94 | 2.16 |
| | 60 | 46.2 | 4.50 | | |
| | 110 | 68.0 | 4.50 | | |
| Methanol | 440 | 15.9 | 0.173 | 0.136 | 0.059 |
| | 1650 | 37.2 | 0.123 | | |
| | 3050 | 54.3 | 0.111 | | |
| Propanol | 47 | 14.8 | 1.48 | 1.59 | 0.70 |
| | 175 | 47.4 | 1.59 | | |
| | 295 | 68.5 | 1.70 | | |
| n-Butanol | 109 | 27.0 | 1.25 | 1.24 | 0.55 |
| | 169 | 38.8 | 1.26 | | |
| | 222 | 46.5 | 1.23 | | |
| | 279 | 54.0 | 1.21 | | |

Tabelle 3.

Versuch mit dem Fermentpräparat Nr. 1 (Aprikose-emulsin).

| Substrat: β -Galaktosid von | t Min. | Spaltung % | ³ 10. k | Mit- tel | Verh- ältnis |
|--------------------------------------|-----------|---------------|-----------------------|-------------|-----------------|
| Phenol | 105 | 23.8 | 1.12 | 1.12 | 1 |
| | 181 | 38.1 | 1.15 | | |
| | 325 | 55.8 | 1.10 | | |
| Isoeugenol | 176 | 21.3 | 0.593 | 0.434 | 0.388 |
| | 368 | 29.4 | 0.589 | | |
| | 1215 | 56.1 | 0.294 | | |
| | 1798 | 66.0 | 0.261 | | |
| 1,3,5-Xylenol | 20 | 27.6 | 7.013 | 7.640 | 6.73 |
| | 36 | 47.1 | 7.680 | | |
| | 68 | 68.3 | 7.327 | | |

| | | | | | |
|-----------------|------|------|-------|-------|------|
| Salicylaldehyd | 20 | 31.7 | 8.28 | 9.01 | 8.04 |
| | 41 | 58.7 | 9.36 | | |
| | 63 | 74.4 | 9.40 | | |
| Methylsalicylat | 343 | 30.0 | 0.451 | 0.403 | 0.36 |
| | 1183 | 66.9 | 0.406 | | |
| | 1758 | 76.0 | 0.353 | | |

Tabelle 4.

Versuch mit dem Fermentpräparat Nr. 1, (Aprikose-emulsin).

| Substrat: β -Galaktosid von | t Min. | Spaltung % | ³ 10. k | Mit- tel | Verh- ältnis |
|--------------------------------------|-----------|---------------|-----------------------|-------------|-----------------|
| Phenol | 1570 | 43.2 | 0.156 | 0.149 | 1 |
| | 2710 | 59.0 | 0.142 | | |
| p-Nitrophenol | 45 | 35.1 | 4.17 | 3.72 | 25.0 |
| | 117 | 58.4 | 3.26 | | |

Tabelle 5.

Versuch mit dem Fermentpräparat Nr. 2, (*Cycas revolta*).

| Substrat: β -Galaktosid von | t Min. | Spaltung % | ³ 10. k | Mit- tel | Verh- ältnis |
|--------------------------------------|-----------|---------------|-----------------------|-------------|-----------------|
| Phenol | 1035 | 36.0 | 0.187 | 0.187 | 1 |
| | 2270 | 62.3 | 0.187 | | |
| m-Kresol | 428 | 31.4 | 0.382 | 0.309 | 1.64 |
| | 1540 | 58.1 | 0.245 | | |
| p-Oxyacetophenon | 200 | 30.6 | 0.786 | 0.537 | 3.05 |
| | 415 | 42.0 | 0.570 | | |
| | 1530 | 71.3 | 0.355 | | |
| Guajakol | 200 | 17.4 | 0.415 | 0.372 | 2.00 |
| | 415 | 29.7 | 0.369 | | |
| | 1530 | 69.0 | 0.332 | | |
| Methanol | 1430 | 29.1 | 0.104 | 0.095 | 0.51 |
| | 2260 | 41.5 | 0.103 | | |
| | 2860 | 42.9 | 0.085 | | |
| | 3895 | 54.3 | 0.087 | | |
| Propanol | 232 | 29.7 | 0.651 | 0.681 | 3.64 |
| | 425 | 50.0 | 0.709 | | |
| | 690 | 66.2 | 0.683 | | |
| n-Butanol | 425 | 26.1 | 0.309 | 0.232 | 1.24 |
| | 690 | 34.8 | 0.270 | | |
| | 1540 | 49.1 | 0.190 | | |
| | 2560 | 61.1 | 0.160 | | |

Tabelle 6.

Versuch mit dem Fermentpräparat
Nr. 2, (*Cycas revolta*).

| Substrat: β -Galaktosid von | t Min. | Spaltung % | ³ 10. k | Mit- tel | Verh- ältnis |
|--------------------------------------|-----------|---------------|-----------------------|-------------|-----------------|
| Phenol | 855 | 27.6 | 0.164 | 0.171 | 1 |
| | 1615 | 47.1 | 0.172 | | |
| | 2385 | 62.3 | 0.177 | | |
| Isoeugenol | 3271 | 36.6 | 0.0604 | 0.581 | 0.34 |
| | 4776 | 43.7 | 0.0535 | | |
| | 7346 | 64.0 | 0.0604 | | |
| 1,3,5- Xylenol | 525 | 38.1 | 0.397 | 0.386 | 2.26 |
| | 663 | 46.2 | 0.406 | | |
| | 1435 | 69.5 | 0.354 | | |
| Salicyl- aldehyd | 145 | 25.5 | 0.882 | 0.867 | 5.10 |
| | 305 | 46.5 | 0.891 | | |
| | 469 | 59.0 | 0.826 | | |
| Methylsalicylat | 3455 | 24.9 | 0.0360 | 0.031 | 0.18 |
| | 4965 | 30.3 | 0.0315 | | |
| | 10585 | 45.8 | 0.0252 | | |

Tabelle 7.

Versuch mit dem Fermentpräparat
Nr. 3, (*Sesamum indicum*).

| Substrat: β -Galaktosid von | t Min. | Spaltung % | ³ 10. k | Min- tel | Verh- ältnis |
|--------------------------------------|-----------|---------------|-----------------------|-------------|-----------------|
| Phenol | 1200 | 33.4 | 0.147 | 0.139 | 1 |
| | 2830 | 57.3 | 0.131 | | |
| o-Kresol | 1200 | 29.4 | 0.126 | 0.117 | 0.84 |
| | 2830 | 50.1 | 0.107 | | |
| p-Kresol | 2200 | 30.3 | 0.130 | 0.128 | 0.92 |
| | 2830 | 56.1 | 0.126 | | |
| m-Kresol | 1235 | 30.6 | 0.127 | 0.122 | 0.88 |
| | 4210 | 67.8 | 0.117 | | |
| Guajakol | 1235 | 22.1 | 0.0878 | 0.077 | 0.56 |
| | 4210 | 44.9 | 0.0669 | | |
| Salicyl- aldehyd | 1235 | 27.3 | 0.112 | 0.104 | 0.75 |
| | 4210 | 60.2 | 0.095 | | |
| Methyl- salicylat | 1235 | 10.6 | 0.0394 | 0.033 | 0.24 |
| | 4210 | 27.0 | 0.0325 | | |
| p-Oxyacet- ophenon | 1235 | 32.7 | 0.139 | 0.113 | 0.81 |
| | 4210 | 60.5 | 0.096 | | |
| Vanillin | 1235 | 26.7 | 0.109 | 0.102 | 0.73 |
| | 4210 | 59.9 | 0.094 | | |

| | | | | | |
|---------------------------------|-------|------|--------|--------|-------|
| Isoeugenol | 1235 | 19.5 | 0.0763 | 0.0689 | 0.41 |
| | 4210 | 44.9 | 0.0615 | | |
| 1,3,5- Xylenol | 1200 | 33.0 | 0.145 | 0.131 | 0.94 |
| | 2830 | 50.4 | 0.117 | | |
| p-Nitro- phenol | 1200 | 35.4 | 0.158 | 0.143 | 1.03 |
| | 2830 | 56.7 | 0.128 | | |
| β -Glucosid von Phenol | 2830 | 14.5 | 0.0240 | 0.0228 | 0.164 |
| | 12899 | 45.5 | 0.0205 | | |

Tabelle 8.

Versuch mit dem Fermentpräparat
Nr. 4 (*Glycine hispida*).

| Substrat: β -Galaktosid von | t Min. | Spaltung % | ³ 10. k | Mit- tel | Verh- ältnis |
|--------------------------------------|-----------|---------------|-----------------------|-------------|-----------------|
| Phenol | 5670 | 20.1 | 0.0172 | 0.019 | 1 |
| | 13095 | 46.8 | 0.0209 | | |
| o-Kresol | 5670 | 16.2 | 0.0135 | 0.015 | 0.80 |
| | 13095 | 38.4 | 0.0161 | | |
| | 17345 | 46.5 | 0.0157 | | |
| p-Kresol | 5670 | 18.3 | 0.0155 | 0.209 | 1.10 |
| | 13095 | 51.3 | 0.0239 | | |
| | 17345 | 60.5 | 0.0232 | | |
| m-Kresol | 5840 | 20.4 | 0.0169 | 0.017 | 0.89 |
| | 11715 | 36.6 | 0.0169 | | |
| Guajakol | 11710 | 23.5 | 0.0993 | 0.011 | 0.56 |
| | 17415 | 36.6 | 0.01134 | | |
| | | | | | |
| Salicyl- aldehyd | 5840 | 23.8 | 0.0202 | 0.018 | 0.94 |
| | 11715 | 33.8 | 0.0153 | | |
| Methyl- salicylat | 17520 | 22.1 | 0.00619 | 0.0059 | 0.31 |
| | 27510 | 29.4 | 0.00530 | | |
| p-Oxyace- tophenon | 5840 | 24.1 | 0.0205 | 0.021 | 1.10 |
| | 11715 | 43.5 | 0.0212 | | |
| Vanillin | 5840 | 28.8 | 0.0253 | 0.021 | 1.11 |
| | 11715 | 41.1 | 0.0169 | | |
| Isoeugenol | 5840 | 23.8 | 0.0202 | 0.018 | 0.94 |
| | 11715 | 32.7 | 0.0147 | | |
| 1,3,5- Xylenol | 5670 | 20.4 | 0.0175 | 0.02 | 1.04 |
| | 13095 | 48.3 | 0.0219 | | |
| p-Nitro- phenol | 4215 | 18.3 | 0.0208 | 0.024 | 1.26 |
| | 11700 | 51.7 | 0.0270 | | |

Tabelle 9.

Versuch mit dem Fermentpräparat Nr. 5, (*Zea mays*).

| Substrat: β-Galaktosid von | t Min. | Spaltung % | 10 ³ , k | Mittel | Verhältnis |
|-------------------------------|-----------|---------------|---------------------|--------|------------|
| Phenol | 274 | 20.6 | 0.366 | 0.356 | 1 |
| | 1594 | 71.9 | 0.346 | | |
| o-Kresol | 134 | 9.7 | 0.311 | 0.349 | 0.98 |
| | 394 | 30.0 | 0.393 | | |
| | 1594 | 71.6 | 0.343 | | |
| p-Kresol | 134 | 10.6 | 0.365 | 0.401 | 1.13 |
| | 394 | 33.4 | 0.448 | | |
| | 1594 | 76.3 | 0.392 | | |
| m-Kresol | 385 | 31.7 | 0.430 | 0.433 | 1.21 |
| | 1400 | 75.5 | 0.436 | | |
| Guajakol | 264 | 11.8 | 0.208 | 0.207 | 0.58 |
| | 394 | 18.3 | 0.223 | | |
| | 1594 | 50.4 | 0.191 | | |
| Salicylaldehyd | 385 | 25.8 | 0.337 | 0.330 | 0.93 |
| | 935 | 50.1 | 0.322 | | |
| Methylsalicylat | 394 | 15.9 | 0.191 | 0.163 | 0.46 |
| | 1594 | 37.5 | 0.135 | | |
| p-Oxyacetophenon | 385 | 25.8 | 0.337 | 0.368 | 1.04 |
| | 1400 | 72.4 | 0.399 | | |
| Vanillin | 385 | 29.1 | 0.388 | 0.370 | 1.05 |
| | 1400 | 67.8 | 0.351 | | |
| Isoeugenol | 385 | 26.4 | 0.346 | 0.343 | 0.96 |
| | 935 | 52.0 | 0.341 | | |
| 1,3,5-Xylenol | 134 | 12.2 | 0.425 | 0.464 | 1.30 |
| | 393 | 38.8 | 0.541 | | |
| | 1594 | 79.0 | 0.425 | | |
| p-Nitrophenol | 134 | 15.9 | 0.561 | 0.466 | 1.31 |
| | 394 | 36.0 | 0.491 | | |
| | 1594 | 71.9 | 0.346 | | |

Tabelle 10.

Versuch mit dem Fermentpräparat Nr. 6, (Takadiastase).

| Substrat: β-Galaktosid | t Min. | Spaltung % | 10 ³ , k | Mittel | Verhältnis |
|---------------------------|-----------|---------------|---------------------|--------|------------|
| Phenol | 40 | 33.8 | 4.48 | 4.31 | 1 |
| | 65 | 45.5 | 4.06 | | |
| | 99 | 63.3 | 4.40 | | |
| m-Kresol | 29 | 36.7 | 6.80 | 6.43 | 1.39 |
| | 60 | 60.2 | 6.65 | | |
| | 112 | 77.8 | 5.84 | | |
| Guajakol | 25 | 20.1 | 3.898 | 3.69 | 0.79 |
| | 53 | 34.5 | 3.467 | | |
| | 90 | 53.7 | 3.715 | | |

| | | | | | |
|------------------|-----|------|-------|-------|-------|
| p-Oxyacetophenon | 25 | 22.8 | 4.495 | 4.74 | 1.02 |
| | 53 | 45.5 | 4.973 | | |
| | 90 | 62.7 | 4.760 | | |
| Methanol | 200 | 16.8 | 0.399 | 0.407 | 0.088 |
| | 375 | 28.8 | 0.393 | | |
| | 655 | 47.7 | 0.429 | | |
| Propanol | 35 | 13.6 | 1.814 | 1.92 | 0.415 |
| | 100 | 35.7 | 1.917 | | |
| | 210 | 62.4 | 2.020 | | |
| n-Butanol | 66 | 18.3 | 1.330 | 1.29 | 0.279 |
| | 157 | 35.7 | 1.221 | | |
| | 248 | 53.0 | 1.322 | | |

Tabelle 11.

Versuch mit dem Fermentpräparat Nr. 6, (Takadiastase).

| Substrat: β-Galaktosid | t Min. | Spaltung % | 10 ³ , k | Mittel | Verhältnis |
|---------------------------|-----------|---------------|---------------------|--------|------------|
| Phenol | 15 | 24.4 | 8.08 | 8.29 | 1 |
| | 30 | 42.6 | 8.02 | | |
| | 48 | 60.8 | 8.47 | | |
| Salicylaldehyd | 15 | 17.4 | 5.53 | 5.27 | 0.65 |
| | 32 | 32.2 | 5.30 | | |
| | 56 | 47.4 | 4.98 | | |
| Methylsalicylat | 80 | 24.1 | 1.49 | 1.42 | 0.17 |
| | 145 | 37.5 | 1.41 | | |
| | 240 | 53.4 | 1.40 | | |
| | 345 | 66.9 | 1.39 | | |
| Isoeugenol | 15 | 18.6 | 5.75 | 6.16 | 0.74 |
| | 32 | 36.9 | 6.24 | | |
| | 56 | 56.7 | 6.49 | | |
| 1,3,5-Xylenol | 10 | 23.1 | 11.4 | 12.05 | 1.45 |
| | 20 | 37.5 | 10.2 | | |
| | 30 | 60.5 | 13.5 | | |
| | 50 | 77.8 | 13.1 | | |

Tabelle 12.

Versuch mit dem Fermentpräparat Nr. 6, (Takadiastase).

| Substrat: β-Galaktosid | t Min. | Spaltung % | 10 ³ , k | Mittel | Verhältnis |
|---------------------------|-----------|---------------|---------------------|--------|------------|
| Phenol | 57 | 26.4 | 2.35 | 2.40 | 1 |
| | 148 | 56.7 | 2.45 | | |
| p-Kresol | 45 | 24.6 | 2.72 | 2.58 | 1.08 |
| | 140 | 54.3 | 2.43 | | |
| p-Nitrophenol | 43 | 28.2 | 3.35 | 2.93 | 1.22 |
| | 138 | 54.9 | 2.51 | | |

Tabelle 13.

Versuch mit dem Fermentpräparat

Nr. 7, (*Aspergillus niger*).

| Substrat: β-Galakt- osid von | t Min. | Spal- tung % | 10 ⁸ , k | Mitt- tel | Ver- hält- nis |
|------------------------------------|-----------|--------------------|---------------------|--------------|----------------------|
| Phenol | 1138 | 22.4 | 0.097 | 0.103 | 1 |
| | 2720 | 48.2 | 0.105 | | |
| | 4160 | 65.0 | 0.109 | | |
| m-Kresol | 1138 | 34.8 | 0.163 | 0.171 | 1.66 |
| | 2720 | 67.2 | 0.181 | | |
| | 4160 | 80.7 | 0.171 | | |
| Guajakol | 1138 | 20.9 | 0.090 | 0.096 | 0.93 |
| | 2720 | 48.2 | 0.105 | | |
| | 4160 | 59.0 | 0.093 | | |
| p-Oxyace- tophenon | 1138 | 30.8 | 0.140 | 0.140 | 1.35 |
| | 2720 | 60.5 | 0.148 | | |
| | 4160 | 71.3 | 0.131 | | |
| Methanol | 6940 | 21.7 | 0.0153 | 0.0142 | 0.12 |
| | 12690 | 34.5 | 0.0145 | | |
| | 16910 | 39.4 | 0.0130 | | |
| Propanol | 3855 | 30.8 | 0.0414 | 0.0436 | 0.43 |
| | 6940 | 52.0 | 0.0459 | | |
| n-Butanol | 3855 | 19.2 | 0.0240 | 0.0249 | 0.24 |
| | 6943 | 33.4 | 0.0254 | | |
| | 9770 | 43.5 | 0.0254 | | |

Tabelle 14.

Versuch mit dem Fermentpräparat

Nr. 7, (*Aspergillus niger*).

| Substrat: β-Galakt- osid von | t Min. | Spal- tung % | 10 ⁸ , k | Mitt- tel | Ver- hält- nis |
|------------------------------------|-----------|--------------------|---------------------|--------------|----------------------|
| Phenol | 1290 | 24.6 | 0.0951 | 0.0801 | 1 |
| | 2745 | 35.7 | 0.0651 | | |
| p-Nitro- phenol | 1290 | 35.7 | 0.149 | 0.147 | 1.83 |
| | 2745 | 59.6 | 0.144 | | |

Tabelle 15.

Versuch mit dem Fermentpräparat

Nr. 7, (*Aspergillus niger*).

| Substrat: β-Galakt- osid von | t Min. | Spal- tung % | 10 ⁸ , k | Mitt- tel | Ver- hält- nis |
|------------------------------------|-----------|--------------------|---------------------|--------------|----------------------|
| Phenol | 1100 | 48.0 | 0.258 | 0.237 | 1 |
| | 1540 | 57.8 | 0.237 | | |
| | 2780 | 75.2 | 0.217 | | |
| Salicyl- aldehyd | 735 | 31.7 | 0.220 | 0.226 | 0.95 |
| | 1285 | 46.5 | 0.211 | | |
| | 2275 | 72.6 | 0.247 | | |

| | | | | | |
|----------------------|------|------|--------|--------|------|
| Methyl- salicylat | 739 | 10.2 | 0.0629 | 0.0538 | 0.22 |
| | 3905 | 48.0 | 0.0429 | | |
| | 6730 | 57.8 | 0.0556 | | |
| Iso- eugenol | 738 | 38.8 | 0.288 | 0.271 | 1.1 |
| | 1282 | 53.7 | 0.261 | | |
| | 2275 | 75.0 | 0.264 | | |
| 1, 3, 5- Xylenol | 290 | 30.9 | 0.550 | 0.569 | 2.3 |
| | 455 | 44.0 | 0.568 | | |
| | 740 | 65.3 | 0.621 | | |
| | 1445 | 83.3 | 0.538 | | |

Tabelle 16.

Versuch mit dem Fermentpräparat

Nr. 8, (*Mutterkorn*).

| Substrat: β-Galakt- osid von | t Min. | Spal- tung % | 10 ⁸ , k | Mitt- tel | Ver- hält- nis |
|------------------------------------|-----------|--------------------|---------------------|--------------|----------------------|
| Phenol | 2880 | 35.4 | 0.0655 | 0.0736 | 1 |
| | 4130 | 51.3 | 0.0757 | | |
| | 5525 | 63.6 | 0.0795 | | |
| m-Kresol | 1680 | 30.0 | 0.092 | 0.101 | 1.37 |
| | 3075 | 52.6 | 0.105 | | |
| | 5980 | 77.2 | 0.106 | | |
| Guajakol | 1680 | 25.2 | 0.075 | 0.072 | 0.98 |
| | 3075 | 38.6 | 0.069 | | |
| | 5980 | 62.0 | 0.070 | | |
| p-Oxyace- tophenon | 1605 | 16.2 | 0.047 | 0.047 | 0.64 |
| | 3000 | 28.2 | 0.048 | | |
| | 5905 | 46.8 | 0.046 | | |
| Methanol | 20590 | 24.9 | 0.0060 | 0.0053 | 0.072 |
| | 30480 | 32.0 | 0.0047 | | |
| Propanol | 25700 | 45.2 | 0.0101 | 0.0102 | 0.150 |
| | 30420 | 51.7 | 0.0103 | | |
| n-Butanol | 18900 | 28.5 | 0.0077 | 0.0077 | 0.104 |
| | 25700 | 35.4 | 0.0073 | | |
| | 30420 | 42.9 | 0.0080 | | |

Tabelle 17.

Versuch mit dem Fermentpräparat

Nr. 9, (*Polyporus sulphureus*).

| Substrat: β-Galakt- osid von | t Min. | Spal- tung % | 10 ⁸ , k | Mitt- tel | Ver- hält- nis |
|------------------------------------|-----------|--------------------|---------------------|--------------|----------------------|
| Pphenol | 350 | 27.6 | 0.400 | 0.430 | 1 |
| | 1090 | 69.3 | 0.470 | | |
| o-Kresol | 345 | 34.1 | 0.526 | 0.531 | 1.23 |
| | 627 | 54.0 | 0.537 | | |

| | | | | | |
|-------------------------------|-------|------|--------|--------|-------|
| p-Kresol | 350 | 23.1 | 0.326 | 0.332 | 0.80 |
| | 1485 | 68.5 | 0.338 | | |
| m-Kresol | 345 | 33.0 | 0.504 | 0.592 | 1.36 |
| | 627 | 56.4 | 0.575 | | |
| | 1370 | 88.9 | 0.698 | | |
| Guajakol | 350 | 28.5 | 0.416 | 0.438 | 1.03 |
| | 1485 | 79.3 | 0.460 | | |
| Salicyl- aldehyd | 380 | 34.5 | 0.484 | 0.508 | 1.20 |
| | 1383 | 81.6 | 0.532 | | |
| Methyl- salicylat | 610 | 32.0 | 0.275 | 0.266 | 0.60 |
| | 1387 | 65.1 | 0.258 | | |
| Vanillin | 380 | 39.4 | 0.572 | 0.580 | 1.35 |
| | 1383 | 84.6 | 0.587 | | |
| Iso- eugenol | 380 | 37.8 | 0.542 | 0.488 | 1.10 |
| | 1380 | 74.7 | 0.433 | | |
| 1, 3, 5- Xylenol | 345 | 36.3 | 0.566 | 0.561 | 1.30 |
| | 610 | 56.4 | 0.496 | | |
| | 1370 | 85.9 | 0.621 | | |
| Methanol | 5695 | 22.1 | 0.0191 | 0.0194 | 0.045 |
| | 10414 | 37.5 | 0.0196 | | |
| Propanol | 1395 | 25.5 | 0.0916 | 0.0798 | 0.19 |
| | 5695 | 59.5 | 0.0680 | | |
| n-Butanol | 1395 | 22.1 | 0.0778 | 0.0713 | 0.16 |
| | 5695 | 57.3 | 0.0649 | | |
| β-Glucos- id von Phecol | 345 | 33.4 | 0.510 | 0.532 | 1.20 |
| | 625 | 54.3 | 0.544 | | |
| | 1370 | 82.0 | 0.543 | | |

Tabelle 18.

Versuch mit dem Fermentpöparat
Nr. 10, (*Irpex lacteus*).

| Substrat: β-Galakt- osid von | t Min. | Spal- tung % | 10 ³ , k | Mitt- el | Ver- höltn- is |
|------------------------------------|-----------|--------------------|---------------------|-------------|----------------------|
| Phenol | 137 | 34.8 | 1.35 | 1.27 | 1 |
| | 207 | 43.5 | 1.20 | | |
| | 257 | 51.0 | 1.21 | | |
| | 347 | 65.3 | 1.32 | | |
| o-Kresol | 167 | 45.5 | 1.58 | 1.55 | 1.22 |
| | 347 | 70.1 | 1.51 | | |
| p-Kresol | 60 | 23.8 | 1.97 | 1.76 | 1.38 |
| | 125 | 36.6 | 1.60 | | |
| | 250 | 62.3 | 1.70 | | |
| m-Kresol | 60 | 30.6 | 2.62 | 2.76 | 2.17 |
| | 180 | 70.1 | 2.91 | | |
| Guajakol | 60 | 23.8 | 1.97 | 1.81 | 1.42 |
| | 125 | 40.2 | 1.79 | | |
| | 250 | 62.0 | 1.68 | | |
| Salicyl- aldehyd | 90 | 27.9 | 1.58 | 1.43 | 1.12 |
| | 245 | 51.7 | 1.29 | | |

| | | | | | |
|-------------------------------|------|------|-------|-------|------|
| Methyl- salicyat | 105 | 15.9 | 0.726 | 0.587 | 0.46 |
| | 230 | 27.0 | 0.594 | | |
| | 1143 | 68.7 | 0.442 | | |
| p-Oxyace- tophenon | 60 | 18.3 | 1.46 | 1.76 | 1.38 |
| | 122 | 32.0 | 1.37 | | |
| | 219 | 51.3 | 1.43 | | |
| Vanillin | 200 | 42.2 | 1.19 | 1.25 | 0.99 |
| | 280 | 57.3 | 1.32 | | |
| 1, 3, 5- Xylenol | 54 | 37.2 | 3.74 | 3.45 | 2.72 |
| | 109 | 58.4 | 3.50 | | |
| | 177 | 71.6 | 3.10 | | |
| Iso- eugenol | 45 | 23.1 | 2.54 | 2.12 | 1.67 |
| | 105 | 41.8 | 2.24 | | |
| | 230 | 57.0 | 1.60 | | |
| Methanol | 1400 | 39.8 | 0.157 | 0.146 | 0.11 |
| | 2740 | 57.5 | 0.135 | | |
| Propanol | 150 | 19.2 | 0.639 | 0.644 | 0.50 |
| | 440 | 48.3 | 0.650 | | |
| n-Butan- ol | 150 | 20.6 | 0.666 | 0.678 | 0.53 |
| | 440 | 50.4 | 0.691 | | |
| β-Glucos- id von Phenol | 37 | 16.5 | 2.12 | 2.18 | 1.71 |
| | 70 | 29.7 | 2.19 | | |
| | 160 | 56.1 | 2.23 | | |

Tabelle 19.

Versuch mit dem Fermentpöparat
Nr. 10, (*Irpex lacteus*)

| Substrat: β-Galakt- osid von | t Min. | Spal- tung % | 10 ³ , k | Mitt- el | Ver- höltn- is |
|------------------------------------|-----------|--------------------|---------------------|-------------|----------------------|
| Pheno 1 | 1210 | 23.1 | 0.0945 | 0.0866 | 1 |
| | 2765 | 39.4 | 0.0787 | | |
| p-Nitro- phenol | 1210 | 24.1 | 0.0990 | 0.0923 | 1.07 |
| | 2765 | 42.0 | 0.0856 | | |

Tabelle 20.

Versuch mit dem Fermentpöparat
Nr. 11, (*Coremiella sp.*)

| Substrat: β-Galakt- osid von | t Min. | Spal- tung % | 10 ³ , k | Mitt- el | Ver- höltn- is |
|------------------------------------|-----------|--------------------|---------------------|-------------|----------------------|
| Phenol | 1540 | 46.2 | 0.175 | 0.178 | 1 |
| | 2690 | 67.8 | 0.182 | | |
| o-Kresol | 1135 | 29.1 | 0.131 | 0.130 | 0.73 |
| | 2520 | 53.0 | 0.130 | | |
| p-Kresol | 1135 | 41.5 | 0.206 | 0.205 | 1.15 |
| | 2520 | 69.5 | 0.205 | | |
| Vanillin | 1100 | 18.9 | 0.0829 | 0.0824 | 0.46 |
| | 2820 | 41.3 | 0.0820 | | |

| | | | | | |
|----------------------|-------|------|--------|--------|-------|
| Iso- eugenol | 1100 | 45.5 | 0.239 | 0.232 | 1.30 |
| | 1540 | 49.1 | 0.190 | | |
| | 2780 | 82.0 | 0.268 | | |
| Methyl- salicylat | 1100 | 9.7 | 0.0403 | 0.0368 | 0.21 |
| | 9655 | 52.3 | 0.0333 | | |
| Methanol | 9655 | 26.4 | 0.0137 | 0.0134 | 0.075 |
| | 15415 | 37.5 | 0.0132 | | |
| Propänoł | 2575 | 27.0 | 0.0531 | 0.0552 | 0.31 |
| | 9655 | 72.1 | 0.0574 | | |
| n-Butanol | 2575 | 28.2 | 0.0559 | 0.0536 | 0.30 |
| | 9655 | 68.0 | 0.0513 | | |

Tabelle 21.

Versuch mit dem Fermentpräparat

Nr. 11, (*Coremiella sp.*)

| Substrat: β-Galakt- osid von | t Min. | Spalt- ung % | 10 ⁶ . k | Mitt- el | Ver- hättn- is |
|------------------------------------|-----------|--------------------|---------------------|-------------|----------------------|
| Phenol | 804 | 24.9 | 0.154 | 0.145 | 1 |
| | 2230 | 49.4 | 0.132 | | |
| | 3675 | 71.8 | 0.149 | | |
| m-Kresol | 515 | 33.8 | 0.348 | 0.325 | 2.2 |
| | 1660 | 68.5 | 0.302 | | |
| 1, 3, 5- Xylenol | 250 | 22.1 | 0.402 | 0.428 | 3.0 |
| | 515 | 41.1 | 0.455 | | |
| | 1660 | 80.0 | 0.430 | | |
| p-Oxyace- tophenon | 1355 | 22.5 | 0.0814 | 0.0837 | 0.58 |
| | 2650 | 40.8 | 0.0859 | | |
| Guajakol | 1355 | 28.8 | 0.109 | 0.111 | 0.80 |
| | 2655 | 50.1 | 0.113 | | |
| Salicyl- aldehyd | 1355 | 22.8 | 0.0829 | 0.0860 | 0.52 |
| | 2650 | 42.0 | 0.0892 | | |
| β-Glucos- id von Phenol | 120 | 41.3 | 1.928 | 2.02 | 14.0 |
| | 252 | 70.6 | 2.109 | | |

Tabelle 22.

Versuch mit dem Fermentpräparat

Nr. 13, (Schneckenhepatopankreas).

| Substrat: β-Galakt- osid von | t Min. | Spal- tung % | 10 ⁶ . k | Mitt- el | Ver- hättn- is |
|------------------------------------|-----------|--------------------|---------------------|-------------|----------------------|
| Phenol | 30 | 23.5 | 3.55 | 3.29 | 1 |
| | 60 | 34.5 | 3.06 | | |
| | 98 | 52.0 | 3.25 | | |
| o-Kresol | 30 | 25.8 | 4.32 | 3.87 | 1.18 |
| | 60 | 38.8 | 3.56 | | |
| | 99 | 57.3 | 3.73 | | |

| | | | | | |
|-------------------------------|------|------|--------|--------|--------|
| p-Kresol | 30 | 25.8 | 4.32 | 3.90 | 1.18 |
| | 60 | 38.8 | 3.56 | | |
| | 99 | 58.1 | 3.82 | | |
| p-Oxyace- phenon | 30 | 27.0 | 4.62 | 4.47 | 1.36 |
| | 62 | 45.5 | 4.25 | | |
| | 93 | 61.4 | 4.55 | | |
| Guajakol | 34 | 15.9 | 2.21 | 2.03 | 0.62 |
| | 90 | 36.9 | 2.22 | | |
| | 180 | 50.4 | 1.67 | | |
| Salicyl- aldehyd | 30 | 33.4 | 6.05 | 4.67 | 1.42 |
| | 62 | 44.2 | 4.09 | | |
| | 93 | 56.4 | 3.89 | | |
| Methyl- salicylat | 34 | 15.9 | 2.21 | 2.03 | 0.62 |
| | 90 | 34.5 | 2.04 | | |
| | 180 | 52.7 | 1.80 | | |
| Vanillin | 30 | 30.6 | 5.25 | 4.79 | 1.45 |
| | 82 | 55.8 | 4.32 | | |
| Iso- eugenol | 35 | 15.9 | 2.15 | 1.79 | 0.54 |
| | 93 | 26.4 | 1.42 | | |
| 1, 3, 5- Xylenol | 60 | 31.4 | 2.69 | 2.38 | 0.72 |
| | 110 | 46.5 | 2.47 | | |
| | 165 | 53.0 | 1.99 | | |
| Methanol | 1155 | 21.3 | 0.0902 | 0.0872 | 0.0265 |
| | 1642 | 28.2 | 0.0877 | | |
| | 2415 | 36.9 | 0.0828 | | |
| | 3790 | 53.7 | 0.0882 | | |
| Propanol | 437 | 32.0 | 0.383 | 0.391 | 0.119 |
| | 1642 | 78.4 | 0.400 | | |
| n-Butanol | 437 | 28.8 | 0.337 | 0.277 | 0.0843 |
| | 1642 | 65.0 | 0.217 | | |
| β-Glucos- id von Phenol | 11 | 15.9 | 6.84 | 7.61 | 2.3 |
| | 38 | 46.8 | 7.21 | | |
| | 54 | 66.4 | 8.77 | | |

Tabelle 23.

Versuch mit dem Fermentpräparat

Nr. 14, (Schweinleber).

| Substrat: β-Galakt- osid von | t Min. | Spal- tung % | 10 ⁶ . k | Mitt- el | Ver- hättn- is |
|------------------------------------|-----------|--------------------|---------------------|-------------|----------------------|
| Phenol | 14630 | 30.6 | 0.0107 | 0.0078 | 1 |
| | 26210 | 33.4 | 0.0067 | | |
| | 30140 | 34.8 | 0.0060 | | |
| o-Kresol | 4771 | 15.1 | 0.0149 | 0.0126 | 1.62 |
| | 14895 | 30.0 | 0.0104 | | |
| p-Kresol | 7011 | 20.1 | 0.0139 | 0.119 | 1.52 |
| | 15208 | 28.2 | 0.0097 | | |

| | | | | | |
|------------------------------|--------------------------------|------------------------------|--------------------------------------|---------|------|
| m-kresol | 10190 21770 25700 | 31.7 45.5 49.1 | 0.0162 0.0121 0.0114 | 0.0132 | 1.70 |
| Guajakol | 19910 25700 | 4.90 10.60 | 0.00105 0.00189 | 0.00147 | 0.19 |
| p-Oxyacetophenon | 2650 5670 11130 12590 | 28.5 45.8 60.8 66.9 | 0.0550 0.0470 0.0365 0.0381 | 0.0441 | 5.65 |
| Methanol | 26210 30140 | Spur Spur | — | — | — |
| Propanol | 21770 25700 | Spur Spur | — | — | — |
| n-Butanol | 21770 25700 | 3.1 4.9 | 0.00063 0.00081 | 0.00072 | 0.09 |
| β -Glucosid von Phenol | 208 574 | 30.3 51.7 | 0.751 0.551 | 0.651 | 8.34 |

Tabelle 24.

Versuch mit dem Fermentpräparat
Nr. 15, (Ochsenleber).

| Substrat: β -Galaktosid | t Min. | Spaltung % | 10 ^s .k | Mittel | Verhältnis |
|----------------------------------|---------------------|----------------------|----------------------------|---------|------------|
| Phenol | 868 1947 | 30.0 56.4 | 0.178 0.185 | 0.181 | 1 |
| o-Kresol | 868 1330 | 33.4 47.1 | 0.204 0.208 | 0.206 | 1.14 |
| p-Kresol | 868 1947 | 42.2 59.0 | 0.275 0.199 | 0.237 | 1.31 |
| m-Kresol | 440 1505 1943 | 20.6 52.7 55.5 | 0.227 0.215 0.181 | 0.208 | 1.15 |
| Guajakol | 5568 11391 | 26.2 31.1 | 0.0236 0.0142 | 0.0189 | 0.104 |
| Salicylaldehyd | 197 417 | 29.7 45.8 | 0.777 0.639 | 0.708 | 3.91 |
| Methylsalicylat | 5568 14288 | 12.9 19.2 | 0.0108 0.0067 | 0.00875 | 0.048 |
| p-Oxyacetophenon | 197 417 | 29.7 45.8 | 0.777 0.639 | 0.708 | 3.91 |
| Vanillin | 67 193 325 | 12.2 31.7 51.0 | 0.843 0.848 0.953 | 0.881 | 4.87 |
| Isoeugenol | 868 1947 4632 | 21.0 31.1 41.8 | 0.1176 0.0831 0.0508 | 0.0838 | 0.46 |

| | | | | | |
|------------------------------|-------------------|----------------------|-------------------------|-------|------|
| 1,3,5-Xylenol | 868 1947 | 30.3 55.8 | 0.180 0.183 | 0.182 | 1.00 |
| p-Nitrophenol | 145 325 465 | 15.9 28.2 35.1 | 0.519 0.443 0.404 | 0.455 | 2.51 |
| β -Glucosid von Phenol | 70 113 1070 | 15.4 18.9 77.5 | 1.038 0.820 0.606 | 0.821 | 4.55 |

Tabelle 25.

Versuch mit dem Fermentpräparat
Nr. 16, (Kulturlösung von *Corticium centrifugum*).

| Substrat: β -Galaktosid von | t Min. | Spaltung % | 10 ^s .k | Mittel | Verhältnis |
|--------------------------------------|---------------|---------------|--------------------|--------|------------|
| Phenol | 9833 12843 | 12.9 15.9 | 0.00610 0.00586 | 0.006 | 1 |
| o-Kresol | 9833 12843 | 21.0 23.8 | 0.01040 0.00919 | 0.0096 | 1.64 |
| p-Kresol | 9833 12843 | 13.3 16.5 | 0.00628 0.00610 | 0.0062 | 1.04 |
| m-Kresol | 9833 12843 | 16.5 21.0 | 0.00797 0.00795 | 0.008 | 1.33 |
| Guajakol | 9833 12843 | 20.1 23.8 | 0.00991 0.00919 | 0.0096 | 1.60 |
| p-Oxyacetophenon | 9833 12843 | 12.9 17.4 | 0.00610 0.00647 | 0.0063 | 1.05 |
| Vanillin | 9833 12843 | 14.5 17.7 | 0.00691 0.00659 | 0.0068 | 1.13 |
| Isoeugenol | 9833 12843 | 20.1 25.2 | 0.00991 0.00982 | 0.0099 | 1.65 |
| 1,3,5-Xylenol | 9833 12843 | 18.6 23.5 | 0.00909 0.00906 | 0.0091 | 1.52 |
| β -Glucosid von Phenol | 3564 8404 | 35.4 62.0 | 0.0533 0.0500 | 0.052 | 8.65 |

II. Hemmungsversuche mit Zuckern und ihren Derivaten.

Aus dem Laboratorium von Akamatsu¹⁾⁶⁾ in der medizinischen Fakultät Chiba ist neuerdings eine Theorie über die Spezifität der β -Glucosidase und β -Galaktosidase vorgeschlagen, wonach die β -Glucosidasen und β -Galaktosidasen auf Grund der spezifischen Hemmung durch Zucker und ihre Derivate sowie des Verhaltens gegenüber den β -Glucosiden bzw. β -Galaktosiden mit verschiedenen Aglykonen in Emulsin- und Taka-typ eingeteilt werden.

Die β -Glucosidasen bzw. β -Galaktosidasen von Emulsin-typ weisen nach diesen Autoren dieselbe Reihenfolge der Reaktionsgeschwindigkeit gegenüber β -Glucosiden bzw. β -Galaktosiden von Phenol-, o-, m- und p-Kresol auf wie Mandelemulsin und sie werden durch Phenol- β -glucosid und β -galaktosid und noch stärker durch Gluconsäure- und Galaktonsäure- γ -lacton gehemmt, während sie durch Glucose, Gluconsäure, Galaktose und Galaktonsäure keine Hemmung erleiden.

Die Theorie besagt ferner, dass bei den β -Glucosidasen des Taka-typs die Reihenfolge der Spaltungsgeschwindigkeit gegenüber den oben genannten Substraten mit derjenigen der Takadiastase übereinstimmt. Weiterhin werden sie durch Phenol- β -glucosid, Glucose, Gluconsäure und Gluconsäure- γ -lacton nicht aber durch entsprechende Verbindungen der Galaktosereihe gehemmt. Bei den β -Galaktosidasen des Taka-typs liegen analoge Verhältnisse vor wie bei der β -Glucosidase desselben Typs; nämlich findet man eine gleiche Reihenfolge der Spaltungsgeschwindigkeit von Phenol-, o-, m- und p-Kresol- β -galaktosid wie bei der β -Galaktosidase von Takadiastase. Sie werden durch Galaktose, Galaktonsäure- γ -lacton und Phenol- β -galaktosid spezifisch gehemmt, dagegen sind sie ganz refraktär gegen Verbindungen der Glucosereihe. Nach der Akamatsuschen Ansicht kommen in der Natur beide typen der β -Glucosidasen bzw. der β -Galaktosidasen öfters in wechselndem Mengenverhältnis gemischt vor, was für die Mannigfaltigkeit des Aktivitätsverhältnisses verschiedener Enzymherkunft verantwortlich gemacht werden sollte.

Im vorigen Kapitel dieser mitteilungen habe ich eine Reihe von Aktivitätsverhältnissen gegenüber den verschiedenen β -Galaktosiden angegeben, wobei diejenigen Werte, die weder mit dem des Emulsin noch mit dem der Takadiastase übereinstimmten, nicht selten angetroffen worden sind. Demnach erscheint es mir wünschenswert, zu prüfen, ob derartige Sachverhalt durch gemischtes Vorkommen der β -Galaktosidase von Emulsin- und Takatyp zustande kommt oder nicht.

In Anschluss an die schöne Methode von Akamatsu wurde das Enzym-typ

durch Hemmungsversuche mit Glucose, Gluconsäure (Ca-salz), Phenol- oder o-Kresol- β -glucosid, Galaktose, Galaktensäure (Ca-salz) und Phenol- oder o-Kresol- β -galaktosid mit p-Nitrophenol- β -galaktosid als Substrat bestimmt. Die Konzentration sowohl der Hemmstoffe als auch der Substrate waren etwas höher als bei den Versuchen von Akamatsuschen Schule, nämlich Hemmstoffe mit einer Konzentration von m/15 und Substrat mit m/833. Die an 11 verschiedenen Fermentpräparaten ermittelten Hemmungstypen und die dazu gehörigen Aktivitätsverhältnisse gegenüber einigen β -Galaktosiden werden in Tabelle 1 zusammengestellt.

Tabelle 1

Hemmungstyp nebst dem dazu gehörigen Aktivitätsverhältnis von β -Galaktosidasen verschiedener Herkunft.

E: Emulsin-typ; T: Taka-typ.

Die Zahlen des Aktivitätsverhältnisses ausser der von Nr. 11 sind der Tabelle 1 im Kapitel I entnommen.

| Nr. | Herkunft des Enzyme | Hem- mung- styp | Aktivitätsverhältnis gegenüber β -Galaktosid von | | | | | | | | | |
|-----|--|-----------------------|--|----------|----------|----------|----------|----------------|-----------------|------------------|------------|---------------|
| | | | Phenol | o-Kresol | p-Kresol | m-Kresol | Guajakol | Salicylaldehyd | Methylsalicylat | p-Oxyacetophenon | Isoeugenol | m, m'-Xylenol |
| 1 | <i>Prunus americana</i> (Aprikose) | E | 1 | 16.0 | 0.6 | 3.6 | 2.2 | 8.0 | 0.36 | 2.2 | 0.39 | 6.7 |
| 2 | Ochsenleber | E | 1 | 1.1 | 1.3 | 1.2 | 0.1 | 3.9 | 0.05 | 3.9 | 0.25 | 1.0 |
| 3 | <i>Corticium centrifugum</i> (Kulturlösung) | T+E? | 1 | 1.6 | 1.0 | 1.3 | 1.6 | — | — | 1.1 | 1.7 | 1.5 |
| 4 | Schneckenhepatopankreas | T+E | 1 | 1.2 | 1.2 | — | 0.6 | 1.4 | 0.6 | 1.4 | 0.5 | 0.7 |
| 5 | Takadiastase | T | 1 | 0.99 | 1.22 | 1.4 | 0.79 | 0.65 | 0.17 | 1.0 | 0.74 | 1.5 |
| 6 | <i>Aspergillus niger</i> | T | 1 | 1.2 | 0.92 | 1.7 | 0.93 | 0.95 | 0.22 | 1.4 | 1.1 | 2.3 |
| 7 | <i>Sesamum indicum</i> | T | 1 | 0.84 | 0.92 | 0.88 | 0.56 | 0.75 | 0.26 | 0.81 | 0.41 | 0.94 |
| 8 | <i>Glycine hispida</i> | T | 1 | 0.80 | 1.1 | 0.89 | 0.56 | 0.94 | 0.31 | 1.1 | 0.94 | 1.0 |
| 9 | <i>Zea mays</i> | T | 1 | 0.98 | 1.1 | 1.2 | 0.58 | 0.93 | 0.46 | 1.0 | 0.96 | 1.3 |
| 10 | <i>Irpex lacteus</i> | T | 1 | 1.2 | 1.4 | 2.2 | 1.4 | 1.1 | 0.46 | 1.4 | 1.7 | 2.7 |
| 11 | <i>Corticium centrifugum</i> (Myzel) | T | * 1 | 1.6 | 1.0 | 1.3 | 1.6 | — | — | 1.1 | 1.1 | 1.7 |

* Die Protokolle dieser Verhältniswerte werden an anderer Stelle beschrieben werden.

Wie aus der Tabelle ersichtlich, zeigten die meisten Fermentpräparate ein scharf definiertes Hemmungstyp, entweder Emulsin- oder Taka-typ, ausgenommen dass die Enzympräparate aus dem Schneckenhepatopankreas und der Kulturlösung von *Corticium* das Gemisch der β -Galaktosidasen von beiden Typen darstellen. Obwohl die Fermentpräparate aus Aprikose und Ochsenleber in bezug auf spezifische Hemmung in dasselbe und zwar das Emulsintyp fallen, so ist jedoch die Reihenfolge der Spaltungsgeschwindigkeit für verschiedene β -Galaktoside voneinander sehr verschieden. Die Angabe von K. Kobayashi, wonach die Reihenfolge der Spaltungsgeschwindigkeit von β -Galaktosidase des Emulsintyps

β -Galaktosid von o-Kresol > m-Kresol > Phenol \geq p-Kresol ist, konnte bei dem Fermentpräparat von Ochsenleber nicht gezeigt werden. Besonders deutlich tritt der Unterschied zwischen den beiden Fermentpräparaten in dem Verhalten gegenüber Guajakol-, o-Kresol- Methylsilylat- und m,m'-Xylenol- β -galaktosid zutage. Demnach erscheint es mir nicht berechtigt, beide β -Galaktosidasen ohne weiteres als identisch zu betrachten.

Die Tatsache, dass es Enzyme gibt, die in ihrem Hemmungsverhalten zwar dasselbe, dennoch in dem Aktivitätsverhältnis voneinander verschieden sind, lässt uns daran, denken dass die aktiven Stellen in dem Enzymmolekül, die, einerseits das Hemmungstyp bedingen und andererseits das Aktivitätsverhältnis bestimmen, voneinander verschieden sind. Der von Miwa¹¹⁾ betreffs der β -Glucosidase erhobene, sowie auch der eigene, über β -Galaktosidase erhaltene Befund, dass die Spaltungsgeschwindigkeit in keiner direkten Beziehung zur Affinitätsgrösse des Enzyms zum Substrat steht, kann als Stütze für obige Ansicht betrachtet. Mit anderen Worten, gibt es keinen Grund dafür, anzunehmen, dass die Grösse der affinitätsmässigen Hemmung mit der Spaltungsgeschwindigkeit in irgendeinem bestimmten Zusammenhang stehen sollte.

Bei den Enzympräparaten, die die Hemmung von Takatyp aufweisen, bleibt der Unterschied in dem Aktivitätsverhältnis nur gering. Fernerhin bemerkt man, dass die Aktivität all diesen Fermentpräparate durch die chemische Natur des Aglykons nur wenig beeinflusst wird. Obzwar die Reihenfolge der Spaltungsgeschwindigkeit für verschiedene β -Galaktoside miteinander nicht immer übereinstimmt, bleibt die Differenz, untereinander so gering, dass es schwer erscheint, dieser grosses Gewicht zuzuteilen. Es wäre daher auch möglich, solche β -Galaktosidasen zu einem Fermenttyp zusammenzufassen. Das bedeutet jedoch nicht, dass diese β -Galaktosidasen in allen Einzelheiten in ihrer Struktur miteinander identisch sind, vielmehr kann man

mit Wahrscheinlichkeit annehmen, dass nur diejenige Gruppen in Fermentmolekül von Enzym zu Enzym gleichartig gebaut sind, die die Hemmung bzw. das Aktivitätsverhältnis bedingen.

Versuche

A. Hemmungskörper.

Als Hemmstoff in der Galaktosidspaltung wurden die folgenden verwendet:

- 1). Phenol- β -D-glucosid (Schmp. 173-174°) oder o-Kresol- β -D-glucosid (Schmp. 163-164°).
- 2). Phenol- β -D-galaktosid (Schmp. 143-144°) oder o-Kresol- β -D-galaktosid (Schmp. 193-194°).
- 3). Glucose.
- 4). Galaktose.
- 5). Calciumgluconat.

Das Calciumsalz, das Herr Dr. M. Fujisaki mir freundlicherweise geliefert hat, wurde aus verdünntem Alkohol umkristallisiert und zuerst im Vakuumexsikator, dann bei 110° im Vakuum über phosphorpentoxid getrocknet.

Spezifische Drehung: (1). Freie Säure, Ca-salz gelöst in 7-Proz. HCL und berechnet für freie Säure, $[\alpha]_D^{26} = +0.27^\circ \times 100 / 2.61 \times 1 = +10.3^\circ$,

unmittelbar nach Auflösen; sie steigt beim Erwärmen auf $[\alpha]_D^{26} = +0.62^\circ \times 100 / 2.61 \times 1 = +23.8^\circ$ an. Nach Tollens¹⁹⁾ sind die entsprechenden Zahlen +10.0° bzw. +23.4°. (2). Ca-Salz, in Wasser, $[\alpha]_D^{26} = +0.32^\circ \times 100 / 5.36 \times 1 = +5.97^\circ$; E. Fischer²⁾ ergab den Wert, +6.7°.

Ca-gehalt: Gefunden 9.30, berechnet für $(C_6H_{11}O_7)_2Ca$, 9.32% Ca.

6). Calciumgalaktonat.

0.7120g Sbst. 0.0886g H₂O (100°, im Vakuum über P₂O₅). Gefunden 17.3, berechnet für $(C_6H_{11}O_7)_2Ca \cdot 5H_2O$ 17.3% H₂O.

Spezifische Drehung: Alle Zahlen beziehen sich auf Hydrat. (1). Freie Säure, Ca-salz gelöst in 7-Proz. HCL und berechnet für freie Säure, $[\alpha]_D^{26} = -0.40^\circ \times 100 / 3.22 \times 1 = -12.4^\circ$, unmittelbar nach Auflösen; sie steigt beim Erwärmen auf $[\alpha]_D^{26} = -1.89^\circ \times 100 / 3.22 \times 1 = -58.7^\circ$ an.

Diese Konstanten stimmen mit den Angaben von Ruff und Franz,¹⁷⁾ -10.6° bzw. -59.7° gut überein. (2). Ca-salz, in Wasser, $[\alpha]_D^{26} = +0.12^\circ \times 100 / 5.36 \times 1 = +2.24^\circ$. Von Schnell und Tollens¹⁸⁾ ist der Wert, +2.85° gegeben.

Ca-gehalt: Gefunden 7.68, berechnet für $(C_6H_{11}O_7)_2Ca \cdot 5H_2O$, 7.70% Ca.

B. Fermentpräparate.

Alle Fermentpräparate wurden in gleicher Weise wie in der vorangeh-

enden Mitteilung hergestellt.

C. Reaktionsbedingungen und Bestimmungsmethode.

Das Reaktionsgemisch der Hemmungsversuche besteht aus:

Substrat, 0.0048 mol p-Nitrophenol-β-d-galaktosid 1 ccm,

Pufferlösung, 0.1 mol Acetatgemisch von pH 4.8, enthaltend

Hemmstoff in einer Konzentration von 0.1333 Mol 2 ccm,

Enzymlösung 1 ccm.

Versuchstemperatur: 30±0.5°.

Die in dieser Pufferlösung etwas schwer löslichen Ca-salze der Glucon- und Galaktonsäure werden unter schwachem Erwärmen in Lösung gebracht. Dass es dabei keine Laktonisierung stattfindet, lässt sich aus dem unveränderten Drehungsvermögen erkennen.

Daraus wird 1.0 ccm Probe entnommen und in 9 ccm 10-Proz. Sodaa- Lösung hineinpipettiert. Die hierauf entstandene gelbe Färbung wird mit der Standardlösung verglichen, woraus sich der Hemmungsgrad berech- net.

Protokolle

Tabelle 2.

Versuch mit dem Fermentpräparat aus *Prunus armeniaca*.

| Hemmungs- körper | Spaltung nach 40 Min. | Spaltungs % nach 120 Min. |
|-----------------------------|-----------------------------|---------------------------------|
| Ohne | 30 | 43 |
| o-Kresol-β-d- galaktosid | 25 | 40 |
| o-Kresol-β-d- glucosid | 23 | 35 |
| Galaktose | 30 | 43 |
| Glucose | 30 | 43 |
| Ca-galaktonat | 30 | 43 |
| Ca-gluconat | 10 | 20 |

Tabelle 4.

Versuch mit dem Fermentpräparat aus *Glycine hispida*.

| Hemmungs- körper | Spaltungs % nach 253 Min. | Spaltungs % nach 1415 Min. |
|---------------------|---------------------------------|----------------------------------|
| Ohne | 5 | 20 |

Tabelle 3.

Versuch mit dem Fermentpräparat aus *Sesamum indicum*.

| Hemmungs- körper | Spaltungs % nach 350 Min. | Spaltungs % nach 1785 Min. |
|-----------------------------|---------------------------------|----------------------------------|
| Ohne | 20 | 50 |
| o-Kresol-β-d- galaktosid | 10 | 23 |
| o-Kresol-β-d- glucosid | 20 | 50 |
| Galaktose | 5 | 18 |
| Glucose | 20 | 50 |
| Ca-galaktonat | 5 | 10 |
| Ca-gluconat | 20 | 50 |

Tabelle 5.

Versuch mit dem Fermentpräparat aus *Zea mays*.

| Hemmungs- körper | Spaltungs % nach 95 Min. | Spaltungs % nach 260 Min. |
|---------------------|--------------------------------|---------------------------------|
| Ohne | 30 | 50 |

| | | |
|-------------------------------|---|----|
| Phenol- β -d-galaktosid | 0 | 3 |
| Phenol- β -d-glucosid | 5 | 20 |
| Galaktose | 0 | 4 |
| Glucose | 5 | 23 |
| Ca-galaktonat | 0 | 2 |
| Ca-gluconat | 5 | 20 |

Tabelle 6.

Versuch mit dem Fermentpräparat aus Takadiastase.

| Hemmungskörper | Spaltungs% nach 83 Min. | Spaltungs% nach 200 Min. |
|---------------------------------|-------------------------|--------------------------|
| Ohne | 30 | 50 |
| o-Kresol- β -d-galaktosid | 10 | 20 |
| o-Kresol- β -d-glucosid | 30 | 50 |
| Galaktose | 10 | 20 |
| Glucose | 30 | 50 |
| Ca-galaktonat | 10 | 18 |
| Ca-gluconat | 30 | 50 |

Tabelle 8.

Versuch mit dem Fermentpräparat aus *Irpex lacteus*.

| Hemmungskörper | Spaltungs% nach 1060 Min. | Spaltungs% nach 8770 Min. |
|---------------------------------|---------------------------|---------------------------|
| Ohne | 43 | 65 |
| o-Kresol- β -d-galaktosid | 20 | 40 |
| o-Kresol- β -d-glucosid | 43 | 65 |
| Galaktose | 15 | 30 |
| Glucose | 43 | 65 |
| Ca-galaktonat | 20 | 40 |

| | | |
|---------------------------------|----|----|
| o-Kresol- β -d-galaktosid | 10 | 20 |
| o-Kresol- β -d-glucosid | 30 | 50 |
| Galaktose | 10 | 20 |
| Glucose | 30 | 50 |
| Ca-galaktonat | 8 | 15 |
| Ca-gluconat | 30 | 50 |

Tabelle 7.

Versuch mit dem Fermentpräparat aus *Aspergillus niger*.

| Hemmungskörper | Spaltungs% nach 360 Min. | Spaltungs% nach 870 Min. |
|---------------------------------|--------------------------|--------------------------|
| Ohne | 20 | 40 |
| o-Kresol- β -d-galaktosid | 8 | 15 |
| o-Kresol- β -d-glucosid | 20 | 40 |
| Galaktose | 8 | 16 |
| Glucose | 20 | 40 |
| Ca-galaktonat | 5 | 10 |
| Ca-gluconat | 20 | 40 |

Tabelle 9.

Versuch mit dem Fermentpräparat aus *Corticium centrifugum* (Myzel).

| Hemmungskörper | Spaltungs% nach 2325 Min. | Spaltungs% nach 6945 Min. |
|---------------------------------|---------------------------|---------------------------|
| Ohne | 7 | 15 |
| o-Kresol- β -d-galaktosid | 3 | 6 |
| o-Kresol- β -d-glucosid | 7 | 15 |
| Galaktose | 3 | 6 |
| Glucose | 7 | 15 |
| Ca-galaktonat | 3 | 6 |

| | | |
|-------------|----|----|
| Ca-gluconat | 43 | 65 |
|-------------|----|----|

Tabelle 10.

Versuch mit dem Fermentpräparat aus der Kulturlösung von *Corticium centrifugum*.

| Hemmungskörper | Spaltungs % nach 120 Min. | Spaltungs % nach 320 Min. |
|-------------------------|---------------------------|---------------------------|
| Ohne | 18 | 31 |
| o-Kresol-β-d-galaktosid | 8 | 15 |
| o-Kresol-β-d-glucosid | 16 | 31 |
| Galaktose | 12 | 18 |
| Glucose | 18 | 31 |
| Ca-galaktonat | 10 | 18 |
| Ca-gluconat | 15 | 31 |

Tabelle 12.

Versuch mit dem Fermentpräparat aus der Ochsenleber.

| Hemmungskörper | Spaltungs % nach 197 Min. | Spaltungs % nach 432 Min. |
|-------------------------|---------------------------|---------------------------|
| Ohne | 30 | 50 |
| o-Kresol-β-d-galaktosid | 20 | 52 |
| o-Kresol-β-d-glucosid | 20 | 30 |
| Galaktose | 30 | 50 |
| Glucose | 30 | 50 |
| Ca-galaktonat | 30 | 50 |
| Ca-glucona | 10 | 17 |

in seinem Hemmungsverhalten dem Emulsin-typ, während sich das Aktivitätsverhältnis in der Spaltung einiger β-Galaktoside, namentlich des o-Kresol, Guajakol-, Methylsalicylat-, m, m'-Xylenol-β-galaktosids, als ganz verschieden von Mandel- bzw. Aprikose-emulsin erweist. Hierbei kann es auch möglich sein, wie von Akamatsuschen Schulern angenommen⁷⁾, dass derartige neue

| | | |
|-------------|---|----|
| Ca-gluconat | 7 | 15 |
|-------------|---|----|

Tabelle 11.

Versuch mit dem Fermentpräparat aus dem Schneckenhepatopankreas.

| Hemmungskörper | Spaltungs % nach 120 Min. | Spaltungs % nach 320 Min. |
|-------------------------|---------------------------|---------------------------|
| Ohne | 50 | 80 |
| o-Kresol-β-d-galaktosid | 30 | 52 |
| o-Kresol-β-d-glucosid | 30 | 52 |
| Galaktose | 50 | 80 |
| Glucose | 50 | 80 |
| Ca-galaktonat | 32 | 54 |
| Ca-gluconat | 28 | 54 |

III. Fraktionierungsversuche an einigen β-Galaktosidasepräparaten Verschiedener Herkunft. Ein Beitrag zur Frage der Glykosidasetypen.

Im zweiten Kapitel dieser mitteilungen habe ich hervorgehoben, dass es nicht selten solche β-Galaktosidasen gibt, die in ihrem Hemmungstyp zwar dasselbe, jedoch in dem Aktivitätsverhältnis voneinander verschieden sind. So gehört z. B. das Enzym aus Ochsenleber

Aktivitätsverhältnis durch Mischung zweier β -Galaktosidasen von Emulsin- und Taka-typ zustande kommt, wobei die letztere wegen geringeres Gehaltes dem Nachweis durch Hemmung entgangen worden war. Zur Entscheidung dieser Frage habe ich die Fraktionierung der Enzympräparate unternommen, um zu sehen, ob eine teilweise Trennung beider β -Galaktosidase-typen stattfinden würde; falls das Enzympräparat wirklich ein Gemisch darstellt. Solche Versuche habe ich schon an der β -Galaktosidase von Takadiastase ausgeführt und festgestellt, dass nur einzige β -Galaktosidase darin vorkommt. In der vorliegenden Arbeit wurde an Fermentpräparaten aus Aprikose-emulsin, *Sesamum*-Samen und Ochsenleber versucht, zu prüfen, ob das Aktivitätsverhältnis gegenüber verschiedenen β -Galaktosiden sowie auch das Verhalten gegen Hemmungskörper bei der Fraktionierung sich ändern oder nicht.

Zur Bestimmung des Aktivitätsverhältnisses dienten als Substrat bei Aprikosen-ferment Phenol- und o-Kresol- β -galaktosid und bei den Fermenten aus *Sesamum*-Samen sowie Ochsenleber zwölf β -Galaktoside mit verschiedenen phenolischen Aglykonen. Ausserdem wurde die β -glucosidatische Wirkung jeder Fermentfraktion mit Phenol- und o-Kresol- oder p-Nitrophenol- β -glucosid als Substrat ermittelt.

Das Hemmungstyp wurde, nach der schönen Methode von Akamatsu, mit p-Nitrophenol- β -galaktosid als Substrat und mit Phenol- oder o-Kresol- β -galaktosid und entsprechenden β -Glucosiden, Galaktose, Glucose Ca-galaktonat und -gluconat als Hemmungskörper bestimmt. Die erhaltenen Resultate sind in folgenden Tabellen 1—3 zusammengestellt.

Tabelle 1.

Fraktionierung des Aprikose-emulsins.

Aktivitätsverhältnis und Hemmungstyp.

Fermentfraktionen: Dazu wurde die Fermentlösung durch stufenweise Fällung mit Methanol fraktioniert.

- Nr. 1. Ausgangslösung A, 1,7-proz. Lösung von nach B. Helferich und Mitarbeitern⁴⁾ mit Tanninverfahren hergestelltem Präparat.
- Nr. 2. Ausgangslösung A, gefällt mit 15-proz. Methanol, Niederschlag in Wasser gelöst.
- Nr. 3. Filtrat aus Nr. 2, gefällt mit 25-proz. Methanol, Niederschlag in Wasser gelöst.
- Nr. 4. Filtrat aus Nr. 3, gefällt mit 40-proz. Methanol, Niederschlag in Wasser gelöst.
- Nr. 5. Filtrat aus Nr. 4, gefällt mit 60-proz. Methanol, Niederschlag in Wasser gelöst.

Nr. 6. Filtrat aus Nr. 5, gefällt mit 80-proz. Methanol, Niederschlag in Wasser gelöst.

Nr. 7. Ausgangslösung B, eine andere Sorte des Tanninpräparats, 1.7 proz. Lösung.

Nr. 8. Ausgangslösung B, gefällt mit 50-proz. Methanol, Niederschlag in Wasser gelöst.

| Nr. | Hemmungs- typ | Aktivitätsverhältnis* | | | |
|-----|------------------|-----------------------|----------|-------------------|--------------|
| | | β -Galaktosid | | β -Glucosid | |
| | | Phenol | o-Kresol | Phenol | o-Kresol |
| 1. | E** | 1 | 16.3 | 6.95 (1) | 161.1 (23.2) |
| 2. | E | 1 | 12.6 | 5.7 (1) | 176.6 (30.8) |
| 3. | — | 1 | 20.2 | 8.6 (1) | 179.0 (21.0) |
| 4. | — | 1 | 17.3 | 13.9 (1) | 378.0 (27.2) |
| 5. | E | 1 | 17.8 | 1.28 (1) | 28.2 (22.0) |
| 6. | E | 1 | 18.8 | 4.74 (1) | 110.5 (23.3) |
| 7. | — | 1 | 14.5 | 6.1 (1) | 143.3 (23.6) |
| 8. | — | 1 | 18.4 | 8.8 (1) | 229.4 (26.1) |

* Aktivitätswert für Phenol- β -galaktosid ist als 1 gesetzt. Eingeklammerte Zahlen zeigen das Aktivitätsverhältnis zwischen Phenol- und o-Kresol- β -glucosid.

** E bedeutet die Hemmung von Emulsin-typ, d. h. die Fermentwirkung wird durch β -Glucosid, β -Galaktosid und Ca-gluconat, nicht aber durch Glucose, Galaktose und Ca-galaktonat gehemmt.

Daraus ist zu ersehen, dass das Verhältnis der Fermentaktivität gegenüber beiden β -Galaktosiden bei der Fraktionierung fast unverändert bleibt. Dies deutet mit Wahrscheinlichkeit darauf hin, dass die β -Galaktosidase des Aprikose-emulsins einheitlich ist. Derselbe Sachverhalt kann auch von der β -Glucosidase des Emulsins gelten.

Bezüglich des Zusammenhanges der β -Glucosidase mit der β -Galaktosidase in Emulsin ist schon von B. Helferich und Mitarbeitern⁵⁾ eine Ansicht hervorgehoben worden, wonach sowohl β -Glucoside als auch β -Galaktoside durch ein und dasselbe Enzym das Süßmandelemulsins gespalten werden. Gegen diese Auffassung spricht jedoch der Befund von Miwa und Mitarbeitern²⁾, dass das Aktivitätsverhältnis des Aprikose-emulsins gegenüber Phenol- β -glucosid und - β -galaktosid bei der Fraktionierung mittels Tonerde-B-Adsorption sowie auch mit Methanolfällung Veränderung erfährt, die sicher ausserhalb der Fehlergrenzen liegt. Solche Resultate können wohl

am leichtesten mit der Annahme erklärt werden, dass die Spaltung der β -Glucoside und der β -Galaktoside durch verschiedene Fermente des Emulsins bewirkt wird. Auf ganz anderen Gründen stellte Akamatsusche Schule¹⁶⁾ eine Spezifitätstheorie auf, wonach β -Glucosidase und β -Galaktosidase des Emulsins verschiedene Enzyme darstellen. Auch meine Versuche haben ergeben, dass der Wirkungsquotient, β -Glucosidase: β -Galaktosidase, durch Fraktionierung mit Methanol oft beträchtliche Schwankung aufweist, was ebenfalls die Annahme der Sonderexistenz zweier, verschiedener Enzyme nahelegt.

Tabelle 2.

Fraktionierung der Fermente von *Sesamum indicum*.
Aktivitätsverhältnis und Hemmungstyp.

Fermentfraktionen :

- Nr. 1. Ausgangslösung, Auszug mit 0.05n-Ammoniak aus Acetonpulver der Samen von *Sesamum indicum*, neutralisiert, von entstandenem Niederschlag befreit, dialysiert.
- Nr. 2. Niederschlag, der beim Neutralisieren des ammoniakalischen Extrakts gebildet wurde, in wenig Wasser suspendiert.
- Nr. 3. Fermentlösung Nr. 1, adsorbiert an Tonerde B bei pH 5.6, gewaschen mit 0.05m Acetatgemisch von pH 4.8, eluiert mit 0.05n-NH₃, neutralisiert.
- Nr. 4. Fermentlösung Nr. 1, mit Essigsäure zu pH 4.8 angesäuert, von entstandenem Niederschlag befreit, dialysiert.
- Nr. 5. Fermentlösung Nr. 4, eingengt bei 30-33° unter vermindertem Druck.

| Nr. | Hemmungstyp | Aktivitätsverhältnis * | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-------------|-------------------------|----------|----------|----------|----------|----------------|---------------|------------------|----------|------------|---------------|---------------|-----------------------|----------|
| | | β -Galaktosid vor | | | | | | | | | | | | β -Glucosid vor | |
| | | Phenol | o-Kresol | p-Kresol | m-Kresol | Guajakol | Salicylaldehyd | Methylallylat | p-Oxyacetophenon | Vanillin | Isoeugenol | 1,3,5-Xylenol | p-Nitrophenol | Phenol | o-Kresol |
| 1. | T** | 1 | 0.84 | 0.92 | 0.88 | 0.56 | 0.75 | 0.24 | 0.81 | 0.73 | 0.41 | 0.94 | 1.03 | 0.16 | 0.26 |
| 2. | T | 1 | 1 | 1.07 | 1 | 0.56 | 0.92 | 0.23 | 1.07 | 1 | 0.50 | 1 | 1.24 | 0.21 | 0.88 |
| 3. | T | 1 | 0.82 | 1.01 | 1 | 0.56 | 0.82 | 0.25 | 1.02 | 0.88 | 0.53 | 1.05 | 0.94 | 0.92 | 0.40 |
| 4. | T | 1 | 0.80 | 0.87 | 1.04 | 0.64 | 0.89 | 0.27 | 0.90 | 0.75 | 0.50 | 1.03 | 1.02 | 0.12 | 0 |
| 5. | — | 1 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | 1.01 | 0.17 | 0.02 |

* Die Aktivität für Phenol- β -galaktosid ist als 1 gesetzt.

** T : Hemmung von Taka-typ, d. h. β -Galaktosidasewirkung wird durch β -

Galaktoside, Galaktose und Ca-galaktonat gehemmt, nicht aber durch Verbindungen der Glucosereihe.

Die Ergebnisse in Tabelle 2. zeigen, dass das Aktivitätsverhältnis der β -Galaktosidase von *Sesamum*-samen gegenüber zwölf β -Galaktosiden bei der Fermentfraktionierung fast unverändert bleibt. Auch das Hemmungstyp jeder Fermentfraktion bleibt dasselbe. Daraus kann man mit Wahrscheinlichkeit schliessen, dass im Samen von *Sesamum* nur einzige β -Galaktosidase im Spiel ist.

Hingegen verhielt sich die β -Glucosidatische Aktivität des *Sesamum*-enzym unabhängig von der β -Galaktosidasewirkung bei der Fermentfraktionierung, was man als Beweis dafür betrachten darf, dass beide Glykosidasen von *Sesamum*-samen voneinander verschieden sind. Weiterhin stösst man bei der β -Glucosidase von *Sesamum*-samen auf einen merkwürdigen Tatbestand, dass das Verhältnis der Wirkung gegen Phenol- β -glucosid : o-Kresol- β -glucosid, eine so erhebliche Schwankung aufweist, dass sie schwer für experimentellen Fehler gehalten werden kann. Solche Ergebnisse lassen uns vielmehr daran denken, dass die *Sesamum*- β -Glucosidase ein Gemisch von mehr als zwei Enzymen mit verschiedener relativer Spezifität darstellt. Näheres darüber soll an anderer Stelle berichtet werden.

Tabelle 3.

Fraktionierung der Fermente von Ochsenleber.
Aktivitätsverhältnis und Hemmungstyp.

Fermentfraktionen :

- Nr. 1. Ausgangslösung A, Ochsenleberautolysat, klar zentrifugiert und dialysiert.
- Nr. 2. Fermentlösung Nr. 1, 28 Tage bei 25-27° stehen gelassen.
- Nr. 3. Ausgangslösung B, Autolysat anderer Sorte, dialysiert.
- Nr. 4. Fermentlösung Nr. 3, adsorbiert an Tonerde B bei pH 5.5, eluiert bei pH 4.8, dialysiert.
- Nr. 5. Tonerde B-Adsorbat, nach Vorelution bei pH 4.8, eluiert mit 0.05n-NH₃, dialysiert.
- Nr. 6. Restlösung der Tonerde B-Adsorption, dialysiert.
- Nr. 7. Dieselbe Fermentlösung wie Nr. 6, Aktivitätsbestimmung derselben aber erfolgte bei pH 7.0 im gegensatz zu pH 4.8 bei Nr. 6.
- Nr. 8. Acetonpräparat der Ochsenleber, mit 0.05n-NH₃ ausgezogen, neutralisiert, dialysiert.
- Nr. 9. Rückstand aus Nr. 8, unter Zusatz von Wasser, 74 Stdn. , bei 30° autolysiert, dialysiert.

Nr. 10. Niederschlag, der beim Zentrifugieren der Ausgangslösung B gebildet wurde, in wenig Wasser suspendiert.

| Nr. | Hemmungstyp | Aktivitätsverhältnis * | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-------------|------------------------|----------|----------|----------|----------|---------------------|----------------------|-----------------------|----------|-----------------|---------------------|--------------------|--------|--------------------|
| | | β-Galaktosid von | | | | | | | | | | | β-Glucosid von | | |
| | | Phenol | o-Kresol | p-Kresol | m-Kresol | Guajakol | Salicyl- aldehyd | Methyl- salicylat | p-Oxyacet- ophenon | Vanillin | Isoeuge- nol | 1, 3, 5-Xy- enol | p-Nitro- phenol | Phenol | p-Nitro- phenol |
| 1. | E** | 1 | 1.14 | 1.31 | 1.15 | 0.104 | 3.91 | 0.048 | 3.91 | 4.87 | 0.46 | 1 | 2.51 | 4.55 | 2.63 |
| 2. | E | 1 | — | 1.42 | — | — | — | — | 4.13 | 4.25 | — | 1.02 | 3.44 | 1.60 | 3.74 |
| 3. | E | 1 | 1 | 1.39 | 1.25 | 0.12 | — | 0.048 | 5.23 | 5.84 | 0.44 | 1.16 | 3.16 | 12.4 | 12.6 |
| 4. | E | 1 | 0.93 | 1.46 | 1.25 | — | — | — | 2.84 | 4.05 | 0.39 | 1.01 | 2.28 | 12.6 | 22.3 |
| 5. | E | 1 | 1.02 | 1.53 | 1.38 | — | — | — | 4.90 | 4.92 | 0.51 | 1.13 | 3.00 | 15.3 | 13.1 |
| 6. | E | 1 | 1.02 | 1.50 | 1.28 | 0.10 | — | 0.054 | 4.44 | 4.93 | 0.51 | 1.20 | 3.81 | 10.1 | 11.2 |
| 7. | — | 1 | 1.03 | 1.46 | 1.44 | 0.12 | — | 0.050 | 5.74 | 6.11 | 0.42 | 1.03 | 4.30 | — | — |
| 8. | E | 1 | 1.07 | 1.37 | 1.30 | — | 6.17 | — | 6.11 | 6.00 | — | 1.07 | 4.56 | 5.56 | 3.84 |
| 9. | E | 1 | 1.11 | 2.02 | 1.64 | — | — | — | 6.20 | 6.86 | — | — | 5.30 | — | — |
| 10. | E | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |

* Die Aktivität für Phenol-β-galaktosid ist als 1 gesetzt.

** E bedeutet die Hemmung von Emulsin-typ.

Aus dieser Tabelle ist zu ersehen, dass sowohl das Aktivitätsverhältnis gegenüber angegebenen β-Galaktosiden wie auch das Hemmungstyp bei der Fraktionierung des Fermentpräparates fast unverändert bleiben. Demnach erscheint es uns möglich, anzunehmen, dass die β-Galaktosidase der Ochsenleber vielleicht einheitlich sei. Nach ihrer Wirkungsreihenfolge in der Spaltung von Phenol-, o-, m- und p-Kresol-β-galaktosid sowie ihrem Verhalten gegenüber Hemmungskörpern, ist die β-Galaktosidase der Ochsenleber von Kobayashi ⁷⁾ dem Emulsin-typ zugeteilt worden. Es ist insofern wohl möglich, das Ochsenleber-ferment in Emulsin-typ einzureihen, als man das Verhalten dieses Enzyms gegenüber den geprüften Hemmungskörpern als wichtiges Merkmal in Betracht zieht. Jedoch lässt die Tatsache, dass das Aktivitätsverhältnis dieses Fermentes gegenüber verschiedenen β-Galaktosiden von demjenigen des Mandelemulsins mehr oder weniger stark abweicht, mit Wahrscheinlichkeit vermuten, dass beide β-Galaktosidasen in allen Einzelheiten miteinander nicht identisch sind. Hierzu erscheint uns die Annahme vielmehr naheliegend, dass die Struktur des Enzyms, die das

Verhalten gegenüber Hemmungskörpern bestimmt, bei beiden Fermenten dieselbe und diejenige, die für das Aktivitätsverhältnis verantwortlich ist, voneinander verschieden ist.

Für solche Auffassung spricht ferner auch der Unterschied in der pH-Abhängigkeit zwischen den beiden β -Galaktosidasen. Wie Abbildung 1 zeigt, weist die Aktivitäts-pH-Kurve der β -Galaktosidase der Ochsenleber eine ziemlich breite pH-Optimumzone auf, was auch von Kobayashi beobachtet worden ist. Sie weicht von derjenigen des Mandel-emulsins stark ab.

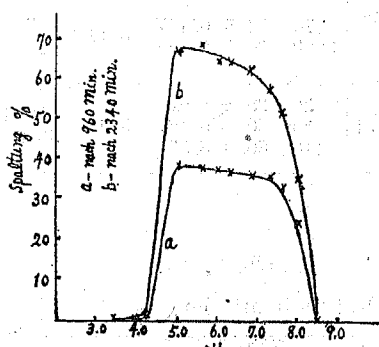


Fig. 1.

Aktivitäts-pH-Kurve der β -Galaktosidase der Ochsenleber.

Die Kurve bei der Fraktionierung des Enzyms unverändert bleibt. Der von etwa pH 5 an nach saurer Seite steil absteigende Verlauf der Kurve findet seinen Grund vielleicht darin, dass die β -Galaktosidase der Ochsenleber gegen H-Ionen ungemein empfindlich ist. So ist z. B. beobachtet worden, dass eine Fermentlösung aus Ochsenleber durch 3-minütigen Aussetzen zu pH 4.4 etwa 70-proz. ihrer β -galaktosidatischen Aktivität einbüßte.

Aus den obigen Ergebnissen möchte ich folgendes erwähnen: es ist möglich, auf Grund des Verhaltens gegenüber Hemmungskörpern, β -Galaktosidase in zwei Typen, Emulsin- und Taka-typ, einzuteilen, jedoch bedingt die Identität in dem Hemmungstyp nicht immer die der Gesamtstruktur des Fermentmoleküls.

Versuche.

Die Bedingungen der enzymatischen Reaktion sowie der Hemmungsversuche habe ich in einer früheren Mitteilung¹⁵⁾ und im zweiten Kapitel dieser Berichte beschrieben. Zur Ermittlung des pH-Optimums an verschiedenen Fermentfraktionen der Ochsenleber, mit Ausnahme von Nr. 1, diente die p-Nitrophenolmethode, die bei den Hemmungsversuchen immer angewendet wurde.

Protokolle.

A: Bestimmung des Aktivitätsverhältnisses an Fermentfraktionen (Nr. 1-8) aus den Samen von *Prunus armeniaca*.

Tabelle 4.

Versuch mit Nr. 1

| Substrat: β-Galaktosid von | t Min. | Spaltung % | 10 ³ . k | Mittel | Verhältnis |
|-------------------------------|-----------|---------------|---------------------|--------|-----------------|
| Phenol | 30 | 21.3 | 3.47 | 2.95 | 1 |
| | 45 | 25.8 | 2.88 | | |
| | 70 | 36.2 | 2.79 | | |
| | 80 | 40.8 | 2.85 | | |
| | 120 | 53.1 | 2.74 | | |
| o-Kresol* | 15 | 23.7 | 7.83 | 8.17 | 16.3 |
| | 30 | 41.9 | 7.86 | | |
| | 45 | 57.8 | 8.83 | | |
| β-Glucosid von Phenol | 10 | 38.3 | 20.97 | 20.50 | 6.95 (1) |
| | 15 | 49.1 | 19.55 | | |
| | 20 | 60.7 | 20.58 | | |
| o-Kresol** | 5 | 22.1 | 21.7 | 23.93 | 161.1 (23.2) |
| | 10 | 42.9 | 24.3 | | |
| | 15 | 59.0 | 25.8 | | |

* Enzymmenge: 1/6. ** Enzymmenge: 1/20.

Tabelle 5.

Versuch mit Nr. 2.

| Substrat: β-Galaktosid von | t Min. | Spaltung % | 10 ³ . k | Mittel | Verhältnis |
|-------------------------------|-----------|---------------|---------------------|--------|-----------------|
| Phenol | 3880 | 23.2 | 0.0295 | 0.0308 | 1 |
| | 8730 | 44.2 | 0.0290 | | |
| | 10930 | 57.3 | 0.0338 | | |
| o-Kresol | 330 | 24.1 | 0.363 | 0.389 | 12.6 |
| | 630 | 44.9 | 0.407 | | |
| | 1440 | 73.2 | 0.398 | | |
| β-Glucosid von Phenol | 970 | 34.5 | 0.177 | 0.176 | 5.7 (1) |
| | 3880 | 79.0 | 0.175 | | |
| o-Kresol | 30 | 28.8 | 4.92 | 5.44 | 176.6 (30.8) |
| | 60 | 50.4 | 5.16 | | |
| | 110 | 80.0 | 6.35 | | |

Tabelle 6.

Versuch mit Nr. 3.

| Substrat: β-Galaktosid von | t Min. | Spaltung % | 10 ³ . k | Mittel | Verhältnis |
|-------------------------------|-----------|---------------|---------------------|--------|-----------------|
| Phenol | 520 | 24.6 | 0.236 | 0.218 | 1 |
| | 1280 | 44.5 | 0.200 | | |
| | 1810 | 59.6 | 0.217 | | |
| o-Kresol | 20 | 18.9 | 4.55 | 4.39 | 20.2 |
| | 55 | 41.9 | 4.29 | | |
| | 85 | 57.9 | 4.41 | | |
| β-Glucosid von Phenol | 60 | 22.8 | 1.87 | 1.88 | 8.6 (1) |
| | 120 | 40.2 | 1.86 | | |
| | 180 | 54.4 | 1.89 | | |
| o-Kresol* | 10 | 23.1 | 11.41 | 13.01 | 179.0 (21.0) |
| | 20 | 47.4 | 13.95 | | |
| | 30 | 61.1 | 13.67 | | |

* Enzymmenge = 1/3

Tabelle 7.

Versuch mit Nr. 4.

| Substrat: β-Galaktosid von | t Min. | Spaltung % | 10 ³ . k | Mittel | Verhältnis |
|-------------------------------|-----------|---------------|---------------------|--------|-----------------|
| Phenol | 180 | 22.1 | 0.603 | 0.655 | 1 |
| | 260 | 32.0 | 0.644 | | |
| | 515 | 54.9 | 0.671 | | |
| o-Kresol* | 15 | 16.5 | 5.22 | 5.67 | 17.3 |
| | 30 | 31.7 | 5.52 | | |
| | 45 | 42.9 | 5.57 | | |
| | 60 | 58.4 | 6.34 | | |
| β-Glucosid von Phenol* | 15 | 17.2 | 5.47 | 6.05 | 13.90 (1) |
| | 30 | 35.1 | 6.26 | | |
| | 45 | 46.8 | 6.09 | | |
| | 60 | 56.9 | 6.09 | | |
| o-Kresol** | 5 | 22.8 | 22.48 | 24.76 | 378.0 (27.2) |
| | 10 | 44.2 | 25.34 | | |
| | 15 | 59.0 | 25.81 | | |
| | 20 | 69.0 | 25.43 | | |

* Enzymmenge = 1/2 ** = 1/1.5 *** = 1/10

Tabelle 8.

Versuch mit Nr. 5.

| Substrat: β-Galaktosid von | t Min. | Spaltung % | 10 ³ . k | Mittel | Verhältnis |
|-------------------------------|-----------|---------------|---------------------|--------|------------|
| Phenol* | 520 | 17.1 | 0.157 | 0.166 | 1 |
| | 1440 | 43.5 | 0.177 | | |
| | 2155 | 55.8 | 0.165 | | |

Tabelle 9.

Versuch mit Nr. 6.

| Substrat: β-Galaktosid von | t Min. | Spaltung % | 10 ³ . k | Mittel | Verhältnis |
|-------------------------------|-----------|---------------|---------------------|--------|------------|
| Phenol | 3350 | 14.8 | 0.0210 | 0.0230 | 1 |
| | 5290 | 24.6 | 0.0230 | | |
| | 12310 | 51.3 | 0.0250 | | |

| | | | | | |
|-----------------------|------|------|-------|-------|-------------|
| o-Kresol* | 75 | 23.5 | 1.55 | 1.48 | 17.8 |
| | 135 | 35.7 | 1.41 | | |
| | 150 | 38.0 | 1.39 | | |
| | 225 | 54.9 | 1.53 | | |
| β-Glucosid von Phenol | 265 | 23.5 | 0.439 | 0.425 | 1.28 (1) |
| | 525 | 40.2 | 0.425 | | |
| | 725 | 54.9 | 0.435 | | |
| | 1365 | 71.6 | 0.401 | | |
| o-Kresol | 15 | 28.2 | 9.59 | 9.36 | 28.2 (22.0) |
| | 30 | 47.4 | 9.30 | | |
| | 50 | 65.3 | 9.19 | | |

* Enzymmenge = 1/2 ** = 1/4

Tabelle 10.
Versuch mit Nr. 7.

| Substrat: β-Galaktosid von | t Min. | Spaltung % | 10 ^a . k | Mittel | Verhältnis |
|----------------------------|--------|------------|---------------------|--------|--------------|
| Phenol | 60 | 12.2 | 0.941 | 0.905 | 1 |
| | 120 | 24.1 | 0.969 | | |
| | 240 | 38.8 | 0.889 | | |
| | 360 | 46.8 | 0.762 | | |
| o-Kresol* | 12 | 16.5 | 6.53 | 6.57 | 14.5 |
| | 20 | 25.2 | 6.31 | | |
| | 40 | 46.8 | 6.60 | | |
| | 60 | 61.1 | 6.84 | | |
| β-Glucosid von Phenol | 20 | 22.1 | 5.43 | 5.50 | 6.1 (1) |
| | 40 | 41.3 | 5.79 | | |
| | 60 | 51.7 | 5.32 | | |
| | 80 | 66.4 | 5.72 | | |
| o-Kresol* | 10 | 25.2 | 12.61 | 12.97 | 143.3 (23.6) |
| | 15 | 35.1 | 12.50 | | |
| | 20 | 43.5 | 12.40 | | |
| | 30 | 63.0 | 14.59 | | |

* Enzymmenge = 1/2 ** = 1/10

B: Hemmungsversuche mit den Fermentfraktionen (Nr. 1-8) aus den Samen von *Prunus armeniaca*.

Tabelle 12.
Versuch mit Nr. 1.
(Enzymmenge 1/25)

| Hemmungskörper | Spaltung % nach | |
|-----------------------|-----------------|---------|
| | 20 Min. | 65 Min. |
| Ohne | 15 | 25 |
| Phenol-β-d-galaktosid | 10 | 15 |
| Phenol-β-d-glucosid | 10 | 15 |
| Galaktose | 15 | 25 |

| | | | | | |
|-----------------------|------|------|--------|-------|--------------|
| o-Koesol* | 480 | 23.6 | 0.242* | 0.216 | 18.8 |
| | 1140 | 42.2 | 0.208 | | |
| | 1770 | 56.7 | 0.205 | | |
| | 2630 | 71.6 | 0.207 | | |
| β-Glucosid von Phenol | 745 | 17.7 | 0.114 | 0.109 | 4.74 (1) |
| | 2350 | 45.5 | 0.112 | | |
| | 4740 | 66.4 | 0.100 | | |
| o-Kresol | 30 | 16.5 | 2.61 | 2.54 | 110.5 (23.3) |
| | 60 | 30.0 | 2.58 | | |
| | 120 | 49.7 | 2.42 | | |

* Enzymmenge = 1/2.

Tabelle 11.
Versuch mit Nr. 8.

| Substrat: β-Galaktosid von | t Min. | Spaltung % | 10 ^a . k | Mittel | Verhältnis |
|----------------------------|--------|------------|---------------------|--------|--------------|
| Phenol | 1410 | 16.5 | 0.0556 | 0.0558 | 1 |
| | 4430 | 43.5 | 0.0560 | | |
| o-Kresol | 150 | 27.6 | 0.94 | 1.03 | 18.4 |
| | 225 | 41.8 | 1.05 | | |
| | 300 | 53.0 | 1.09 | | |
| β-Glucosid von Phenol | 265 | 28.2 | 0.543 | 0.491 | 8.8 (1) |
| | 525 | 43.5 | 0.472 | | |
| | 795 | 56.7 | 0.457 | | |
| o-Kresol* | 10 | 25.2 | 12.6 | 12.8 | 229.4 (26.1) |
| | 30 | 59.0 | 12.9 | | |

* Enzymmenge = 1/10

Tabelle 13.
Versuch mit Nr. 2.

| Hemmungskörper | Spaltung % nach | |
|-----------------------|-----------------|----------|
| | 190 Min. | 550 Min. |
| Ohne | 20 | 35 |
| Phenol-β-d-galaktosid | 15 | 25 |
| Phenol-β-d-glucosid | 14 | 23 |
| Galaktose | 20 | 35 |

| | | |
|---------------|----|----|
| Glucose | 15 | 25 |
| Ca-galaktonat | 15 | 25 |
| Ga-gluconat | 5 | 10 |

Tabelle 14.

Versuch mit Nr. 5.

(Enzymmenge 1/20)

| Hemmungs- körper | Spaltung % nach | |
|-----------------------------------|-----------------|----------|
| | 260 Min. | 720 Min. |
| Ohne | 22 | 35 |
| Phenol- β -d- galaktosid | 16 | 26 |
| Phenol- β -d- glucosid | 15 | 21 |
| Galaktose | 22 | 35 |
| Glucose | 22 | 35 |
| Ca-galaktonat | 22 | 35 |
| Ca-gluconat | 7 | 12 |

| | | |
|---------------|----|----|
| Glucose | 20 | 35 |
| Ca-galaktonat | 20 | 35 |
| Ca-gluconat | 6 | 13 |

Tabelle 15.

Versuch mit Nr. 6.

| Hemmungs- körper | Spaltung % nach | |
|-----------------------------------|-----------------|----------|
| | 240 Min. | 620 Min. |
| Ohne | 23 | 36 |
| Phenol- β -d- galaktosid | 17 | 26 |
| Phenol- β -d- glucosid | 14 | 23 |
| Galaktose | 23 | 36 |
| Glucose | 23 | 36 |
| Ga-galaktonat | 23 | 36 |
| Ca-gluconat | 6 | 12 |

C: Bestimmung des Aktivitätsverhältnisses an Fermentfraktionen

(Nr. 1- 5) aus den Samen von *Sesamum indicum*.

Tabelle 16.

Versuch mit Nr. 1.

| Substrat: β -Galakt- osid von | t Min. | Spal- tung % | 10 ³ .k | Mitt- el | Verh- ältnis |
|---|-----------|--------------------|--------------------|-------------|-----------------|
| Phenol | 1200 | 33.4 | 0.147 | 0.139 | 1 |
| | 2830 | 57.3 | 0.131 | | |
| o-Kresol | 1200 | 29.4 | 0.126 | 0.117 | 0.84 |
| | 2830 | 50.1 | 0.107 | | |
| p-Kresol | 1200 | 30.3 | 0.130 | 0.128 | 0.92 |
| | 2830 | 56.1 | 0.126 | | |
| m-Kresol | 1235 | 30.6 | 0.127 | 0.122 | 0.88 |
| | 4210 | 67.8 | 0.117 | | |
| Guajakol | 1235 | 22.1 | 0.0878 | 0.0774 | 0.56 |
| | 4210 | 47.7 | 0.0669 | | |
| Salicyl- aldehyd | 1235 | 27.3 | 0.112 | 0.104 | 0.75 |
| | 4210 | 60.2 | 0.095 | | |
| Methylsa- licylat | 1235 | 10.6 | 0.0394 | 0.331 | 0.24 |
| | 4210 | 27.0 | 0.0325 | | |
| | 10080 | 46.8 | 0.0274 | | |

| | | | | | |
|--------------------------------------|-------|------|--------|--------|---------------|
| p-Oxyace- tophenon | 1235 | 32.7 | 0.139 | 0.113 | 0.81 |
| | 4210 | 60.5 | 0.096 | | |
| Vanillin | 1235 | 26.7 | 0.109 | 0.102 | 0.73 |
| | 4210 | 59.9 | 0.094 | | |
| Isoeugen- ol | 1235 | 19.5 | 0.0763 | 0.0689 | 0.41 |
| | 4210 | 44.9 | 0.0615 | | |
| 1,3,5- Xylenol | 1200 | 33.0 | 0.145 | 0.131 | 0.94 |
| | 2830 | 53.4 | 0.117 | | |
| p-Nitro- phenol | 1200 | 35.4 | 0.158 | 0.143 | 1.03 |
| | 2830 | 56.7 | 0.128 | | |
| β -Glucos- id von Phenol | 2830 | 14.5 | 0.0240 | 0.0228 | 0.164 (1) |
| | 8380 | 36.9 | 0.0238 | | |
| | 12899 | 45.5 | 0.0205 | | |
| o-Kresol | 1420 | 11.8 | 0.0384 | 0.0366 | 0.26 (1.6) |
| | 4190 | 28.8 | 0.0352 | | |
| | 8645 | 51.3 | 0.0362 | | |

Tabelle 17.

Versuch mit Nr. 2.

| Substrat: β-Galakt- osid von | t Min. | Spal- tung % | 10 ³ . k | Mitt- el | Verh- ältnis |
|------------------------------------|----------------------|---------------------|----------------------------|-------------|-----------------|
| Phenol | 1435 2890 | 37.2 60.8 | 0.141 0.141 | 0.141 | 1 |
| o-Kresol | 1065 2535 | 33.4 50.1 | 0.166 0.119 | 0.143 | 1.01 |
| p-Kresol | 1065 2535 | 22.8 57.3 | 0.155 0.146 | 0.151 | 1.07 |
| m-Kresol | 1200 2600 | 34.1 54.0 | 0.151 0.130 | 0.141 | 1.00 |
| Guajakol | 1065 2535 | 18.9 34.5 | 0.0854 0.0725 | 0.0790 | 0.56 |
| Salicyl- aldehyd | 1200 2600 | 32.7 50.4 | 0.143 0.117 | 0.130 | 0.92 |
| Methylsa- licylat | 1065 5335 7589 | 9.3 28.2 40.8 | 0.0596 0.0270 0.0300 | 0.0322 | 0.23 |
| p-Oxyace- tophenon | 1200 2600 | 33.0 60.5 | 0.145 0.155 | 0.150 | 1.07 |
| Vanillin | 1200 2600 | 32.7 57.0 | 0.143 0.141 | 0.142 | 1.00 |
| Iso- eugenol | 1200 2920 | 20.6 32.0 | 0.0835 0.0574 | 0.0705 | 0.50 |
| 1, 3, 5- Xylenol | 1065 2535 | 31.7 51.7 | 0.155 0.125 | 0.140 | 1.00 |
| p-Nitro- phenol | 1065 2535 | 39.8 57.0 | 0.207 0.144 | 0.176 | 1.24 |
| β-Glucos- id von Phenol | 1080 4160 8260 | 5.3 23.5 36.6 | 0.0217 0.0280 0.0239 | 0.0245 | 0.21 (1) |
| o-Kresol | 1080 4160 | 22.1 62.7 | 0.104 0.103 | 0.1035 | 0.88 (4.22) |

Tabelle 18.

Versuch mit Nr. 3.

| Substrat: β-Galakt- osid von | t Min. | Spal- tung % | 10 ³ . k | Mitt- el | Verh- ältnis |
|------------------------------------|--------------|--------------------|---------------------|-------------|-----------------|
| Phenol | 1305 2755 | 36.3 54.3 | 0.149 0.127 | 0.138 | 1 |
| o-Kresol | 1155 2600 | 27.0 47.4 | 0.118 0.107 | 0.113 | 0.82 |
| p-Kresol | 1155 2600 | 32.0 55.5 | 0.145 0.135 | 0.140 | 1.01 |
| m-Kresol | 1155 2600 | 32.0 54.9 | 0.145 0.133 | 0.139 | 1.00 |

| | | | | | |
|-------------------------------|----------------------|----------------------|----------------------------|--------|----------------|
| Guajakol | 1155 4030 | 19.2 48.3 | 0.0830 0.0710 | 0.0770 | 0.56 |
| Salicyl- aldehyd | 1155 2600 | 27.0 47.4 | 0.118 0.107 | 0.113 | 0.82 |
| Methyl- salicylat | 2600 6878 | 20.4 38.8 | 0.0380 0.0310 | 0.0345 | 0.25 |
| p-Oxyace- tophenon | 1155 2600 | 33.0 54.3 | 0.151 0.131 | 0.141 | 1.02 |
| Vanillin | 1155 2600 | 25.2 49.4 | 0.129 0.114 | 0.122 | 0.88 |
| Iso- eugenol | 1155 4030 | 18.9 46.8 | 0.0788 0.0680 | 0.0734 | 0.53 |
| 1, 3, 5- Xylenol | 1155 2600 | 32.0 57.3 | 0.145 0.143 | 0.144 | 1.05 |
| p-Nitro- phenol | 1305 2755 | 36.6 49.4 | 0.151 0.108 | 0.130 | 0.94 |
| β-Glucos- id von Phenol | 1085 5450 8260 | 9.3 40.2 54.9 | 0.0388 0.0409 0.0418 | 0.0401 | 0.29 (1) |
| o-Kresol | 1085 5450 8260 | 12.6 54.6 59.3 | 0.0540 0.0629 0.0473 | 0.0547 | 0.40 (1.36) |

Tabelle 19.

Versuch mit Nr. 4.

| Substrat: β-Galakt- osid von | t Min. | Spal- tung % | 10 ³ . k | Mitt- el | Verh- ältnis |
|------------------------------------|----------------------|----------------------|----------------------------|-------------|-----------------|
| Phenol | 1130 3940 | 17.1 49.7 | 0.0721 0.0757 | 0.0740 | 1 |
| o-Kresol | 2665 6910 | 29.7 62.0 | 0.0574 0.0608 | 0.0591 | 0.80 |
| p-Kresol | 2665 6910 | 31.7 65.3 | 0.0621 0.0665 | 0.0643 | 0.87 |
| m-Kresol | 2665 6910 | 37.8 70.1 | 0.0774 0.0760 | 0.0767 | 1.04 |
| Guajakol | 2630 5518 | 27.6 41.3 | 0.0533 0.0419 | 0.0476 | 0.64 |
| Salicyl- aldehyd | 3129 6163 | 35.1 64.0 | 0.0600 0.0720 | 0.0660 | 0.89 |
| Methylsa- licylat | 2665 7000 9808 | 12.2 25.8 35.1 | 0.0212 0.0185 0.0192 | 0.0196 | 0.27 |
| p-Oxyace- tophenon | 2665 6910 | 35.1 66.4 | 0.0705 0.0685 | 0.0695 | 0.90 |
| Vanillin | 2665 6910 | 29.1 58.1 | 0.0560 0.0547 | 0.0554 | 0.75 |

| | | | | | |
|--------------------------------------|---------------|----------------|---------------------|--------|--------|
| Iso- eugenol | 2350 4028 | 17.7 29.7 | 0.0360 0.0380 | 0.0370 | 0.50 |
| 1, 3, 5- Xylenol | 2665 6910 | 39.4 67.2 | 0.0820 0.0701 | 0.0761 | 1.03 |
| p-Nitro- Phenol | 1130 3940 | 18.3 48.3 | 0.0777 0.0726 | 0.0752 | 1.02 |
| β -Glucos- id von Phenol | 7000 12647 | 10.60 27.00 | 0.006950 0.01080 | 0.0888 | 0.12 |
| o-Kresol | 7000 12647 | 0 Spur | — — | — — | — — |

Tabelle 20.

Versuch mit Nr. 5

D: Hemmungsversuche mit den Fermentfraktionen (Nr. 1-4) aus den Samen von *Sesamum indicum*.

Tabelle 21.

Versuch mit Nr. 1.

| Hemmungs- körper | Spaltung % nach | |
|-------------------------------------|-----------------|-----------|
| | 350 Min. | 1785 Min. |
| Ohne | 20 | 50 |
| o-Kresol- β - d-galaktosid | 10 | 23 |
| o-Kresol- β - d-glucosid | 20 | 50 |
| Galaktose | 5 | 18 |
| Glucose | 20 | 50 |
| Ca-galaktonat | 5 | 10 |
| Ca-gluconat | 20 | 50 |

Tabelle 23.

Versuch mit Nr. 3.

| Hemmungs- körper | Spaltung % nach | |
|-----------------------------------|-----------------|-----------|
| | 420 Min. | 1620 Min. |
| Ohne | 26 | 52 |
| Phenol- β - d-galaktosid | 10 | 21 |
| Phenol- β - d-glucosid | 26 | 52 |
| Galaktose | 10 | 21 |
| Glucose | 26 | 52 |

| Substrat: β -Galakt- osid von | t Min. | Spal- tung % | 10 ³ k | Mit- tel | Verh- ältnis |
|---|-----------------------|----------------------|----------------------------|-------------|-----------------|
| p-Nitro- Phenol | 327 1447 2887 | 11.0 38.8 61.7 | 0.155 0.148 0.144 | 0.149 | 1.01 |
| Phenol | 1065 2479 | 27.9 59.6 | 0.134 0.159 | 0.147 | 1 |
| β -Glucos- id von Phenol | 2670 8345 15537 | 15.9 37.5 53.0 | 0.0282 0.0244 0.0211 | 0.0246 | 0.17 |
| o-Kresol | 8345 18405 | 5.30 10.60 | 0.0281 0.0264 | 0.0027 | 0.02 |

Tabelle 22.

Versuch mit Nr. 2.

| Hemmungs- körper | Spaltung % nach | |
|-----------------------------------|-----------------|-----------|
| | 310 Min. | 1487 Min. |
| Ohne | 25 | 50 |
| Phenol- β - d-galaktosid | 7 | 20 |
| Phenol- β - d-glucosid | 25 | 50 |
| Galaktose | 10 | 20 |
| Glucose | 25 | 50 |
| Ca-galaktonat | 5 | 10 |
| Ca-gluconat | 25 | 50 |

Tabelle 24.

Versuch mit Nr. 4.

| Hemmungs- körper | Spaltung % nach | |
|-----------------------------------|-----------------|-----------|
| | 1160 Min. | 2640 Min. |
| Ohne | 20 | 40 |
| Phenol- β - d-galaktosid | 5 | 10 |
| Phenol- β - d-glucosid | 20 | 40 |
| Galaktose | 5 | 10 |
| Glucose | 20 | 40 |

| | | |
|---------------|----|----|
| Ca-galaktonat | 7 | 10 |
| Ca-gluconat | 26 | 52 |

| | | |
|---------------|----|----|
| Ca-galaktonat | 2 | 6 |
| Ca-gluconat | 20 | 40 |

E: Bestimmung des Aktivitätsverhältnisses an Fermentfraktionen

(Nr. 1- 9) aus Ochsenleber.

Tabelle 25.

Versuch mit Nr. 1.

| Substrat: β-Galakt- osid von | t Min. | Spal- tung % | 10 ³ k | Mitt- el | Ver- hält- nis |
|------------------------------------|---------------------|----------------------|----------------------------|-------------|----------------------|
| Phenol | 868 1947 | 30.0 56.4 | 0.178 0.185 | 0.181 | 1 |
| o-Kresol | 868 1330 | 33.4 47.1 | 0.204 0.268 | 0.206 | 1.14 |
| p-Kresol | 868 1947 | 42.2 59.0 | 0.275 0.199 | 0.237 | 1.31 |
| m-Kresol | 440 1505 1943 | 20.6 52.7 55.5 | 0.227 0.215 0.181 | 0.208 | 1.15 |
| Guajakol | 5568 11391 | 26.2 31.1 | 0.0236 0.0142 | 0.0189 | 0.104 |
| Salicyl- aldehyd | 197 417 | 29.7 45.8 | 0.777 0.639 | 0.708 | 3.91 |
| Methyl- salicylat | 5568 14288 | 12.9 19.2 | 0.0108 0.0067 | 0.00875 | 0.048 |
| p-Oxyace- tophenon | 197 417 | 29.7 45.8 | 0.777 0.639 | 0.708 | 3.91 |
| Vanillin | 67 193 325 | 12.2 31.7 51.0 | 0.843 0.848 0.953 | 0.881 | 4.87 |
| Iso- eugenol | 868 1947 4632 | 21.0 31.1 41.8 | 0.1176 0.0836 0.0508 | 0.0838 | 0.46 |
| 1, 3, 5- Xylenol | 868 1947 | 30.3 55.8 | 0.180 0.183 | 0.182 | 1.00 |
| p-Nitro- phenol | 145 325 465 | 15.9 28.2 35.1 | 0.519 0.443 0.404 | 0.455 | 2.51 |
| β-Glucos- id von Phenol | 70 113 1070 | 15.4 18.9 77.5 | 1.038 0.820 0.606 | 0.821 | 4.55 |
| p-Nitro- phenol | 210 1070 | 23.5 62.0 | 0.554 0.393 | 0.477 | 2.63 |

Tabelle 26.

Versuch mit Nr. 2.

| Substrat: β-Galakt- osid von | t Min. | Spal- tung % | 10 ³ k | Mitt- tel | Verh- ältnis |
|------------------------------------|---------------|--------------------|-------------------|--------------|-----------------|
| Phenol | 3057 10010 | 15.4 26.7 | 0.0238 0.0135 | 0.0187 | 1 |
| p-Kresol | 3057 10010 | 17.7 44.2 | 0.0277 0.0253 | 0.0265 | 1.42 |
| p-Oxyace- tophenon | 1430 3130 | 23.8 40.5 | 0.0826 0.0720 | 0.0773 | 4.13 |
| Vanillin | 1430 3130 | 24.1 41.8 | 0.0838 0.0751 | 0.0795 | 4.25 |
| 1, 3, 5- Xylenol | 3057 10010 | 15.9 26.4 | 0.0246 0.0133 | 0.0190 | 1.02 |
| p-Nitro- phenol | 1430 3130 | 20.6 34.5 | 0.0701 0.0587 | 0.0644 | 3.44 |
| β-Glucos- id von Phenol | 1430 3130 | 9.7 18.9 | 0.0310 0.0290 | 0.0300 | 1.60 |
| p-Nitro- phenol | 1430 3130 | 21.3 38.4 | 0.0727 0.0673 | 0.0700 | 3.74 |

Tabelle 27.

Versuch mit Nr. 3.

| Substrat: β-Galakt- osid von | t Min. | Spal- tung % | 10 ³ k | Mitt- el | Verh- ältnis |
|------------------------------------|--------------------|----------------------|-------------------------|-------------|-----------------|
| Phenol | 105 355 1420 | 11.0 32.3 72.9 | 0.500 0.477 0.400 | 0.459 | 1 |
| o-Kresol | 105 355 1420 | 11.0 32.0 73.5 | 0.500 0.472 0.406 | 0.459 | 1.00 |
| p-Kresol | 105 355 720 | 14.2 41.3 66.4 | 0.633 0.625 0.658 | 0.639 | 1.39 |
| m-Kresol | 105 355 720 | 12.9 38.1 60.2 | 0.571 0.587 0.556 | 0.571 | 1.25 |
| Guajakol | 1010 2580 | 12.9 25.8 | 0.0524 0.0502 | 0.0548 | 0.12 |
| Methylsal- icylat | 2580 4550 | 12.9 19.5 | 0.0233 0.0207 | 0.0220 | 0.048 |

| | | | | | |
|------------------------------|--------------------|----------------------|-------------------------|-------|------|
| p-Oxyacetophenon | 52 110 202 | 28.2 40.2 60.8 | 2.77 2.03 2.01 | 2.40 | 5.23 |
| Vanillin | 52 202 | 29.4 68.0 | 2.91 2.45 | 2.68 | 5.84 |
| Iso-eugenol | 410 2150 | 25.2 42.9 | 0.301 0.113 | 0.202 | 0.44 |
| 1, 3, 5-Xylenol | 105 355 1420 | 14.2 36.3 75.0 | 0.633 0.550 0.424 | 0.535 | 1.16 |
| p-Nitrophenol | 105 202 | 29.4 49.1 | 1.44 1.45 | 1.45 | 3.16 |
| β -Glucosid von Phenol | 37 105 | 37.8 75.5 | 5.57 5.81 | 5.69 | 12.4 |
| p-Nitrophenol | 37 105 | 40.8 72.9 | 6.15 5.40 | 5.78 | 12.6 |

Tabelle 28.

Versuch mit Nr. 4.

| Substrat: β -Galaktosid von | t Min. | Spaltung % | 10 ³ .k | Mittel | Verhältnis |
|--------------------------------------|----------------|---------------|--------------------|---------|------------|
| Phenol | 10050 15565 | 14.8 20.1 | 0.00692 0.00626 | 0.00659 | 1 |
| o-Kresol | 10050 15565 | 14.2 18.3 | 0.00662 0.00564 | 0.00613 | 0.93 |
| p-Kresol | 10050 15565 | 20.6 28.2 | 0.00997 0.00924 | 0.00961 | 1.46 |
| m-Kresol | 10050 15565 | 17.7 25.2 | 0.00842 0.00810 | 0.00826 | 1.25 |
| p-Oxyacetophenon | 7560 15565 | 30.6 44.9 | 0.0208 0.0166 | 0.0187 | 2.84 |
| Vanillin | 7560 15565 | 35.7 51.0 | 0.0254 0.0200 | 0.0227 | 4.05 |
| Iso-eugenol | 15565 | 8.8 | 0.00257 | | 0.39 |
| 1, 3, 5-Xylenol | 10050 15565 | 15.1 20.1 | 0.00707 0.00626 | 0.0067 | 1.01 |
| p-Nitrophenol | 7560 15565 | 27.6 32.3 | 0.0186 0.0109 | 0.0150 | 2.28 |
| β -Glucosid von Phenol | 1420 3425 | 25.2 45.5 | 0.0888 0.0770 | 0.0829 | 12.6 |
| p-Nitrophenol | 1420 3425 | 42.9 62.0 | 0.171 0.123 | 0.147 | 22.3 |

Tabelle 29.

Versuch mit Nr. 5.

| Substrat: β -Galaktosid von | t Min. | Spaltung % | 10 ³ .k | Mittel | Verhältnis |
|--------------------------------------|--------------|---------------|--------------------|--------|------------|
| Phenol | 1175 2660 | 15.9 36.6 | 0.0640 0.0737 | 0.0689 | 1 |
| o-Kresol | 1175 2660 | 16.5 36.6 | 0.0667 0.0737 | 0.0702 | 1.02 |
| p-Kresol | 1175 2660 | 24.1 48.0 | 0.102 0.107 | 0.105 | 1.53 |
| m-Kresol | 1175 2660 | 22.1 44.9 | 0.0923 0.0973 | 0.0948 | 1.38 |
| p-Oxyacetophenon | 210 1175 | 18.9 49.1 | 0.433 0.250 | 0.341 | 4.90 |
| Vanillin | 210 1175 | 18.9 49.7 | 0.433 0.254 | 0.343 | 4.92 |
| Iso-eugenol | 2660 4820 | 22.1 28.8 | 0.0408 0.0299 | 0.354 | 0.51 |
| 1, 3, 5-Xylenol | 1175 2660 | 18.9 38.1 | 0.0774 0.0783 | 0.0779 | 1.13 |
| p-Nitrophenol | 550 1175 | 22.1 32.3 | 0.241 0.144 | 0.193 | 3.00 |
| β -Glucosid von Phenol | 155 310 | 30.9 53.7 | 1.03 1.08 | 1.05 | 15.3 |
| p-Nitrophenol | 195 410 | 33.8 56.7 | 0.919 0.887 | 0.903 | 13.1 |

Tabelle 30.

Versuch mit Nr. 6.

| Substrat: β -Galaktosid von | t Min. | Spaltung % | 10 ³ .k | Mittel | Verhältnis |
|--------------------------------------|--------------|---------------|--------------------|--------|------------|
| Phenol | 295 1070 | 25.5 55.5 | 0.434 0.329 | 0.381 | 1 |
| o-Kresol | 295 1070 | 25.2 59.0 | 0.428 0.362 | 0.395 | 1.02 |
| p-Kresol | 295 1070 | 35.4 70.9 | 0.644 0.500 | 0.572 | 1.50 |
| m-Kresol | 295 1070 | 31.1 65.3 | 0.548 0.430 | 0.489 | 1.28 |
| Guajakol | 2420 3210 | 20.6 24.1 | 0.0414 0.0370 | 0.0392 | 0.10 |
| Methylalicylat | 2420 4210 | 12.9 14.8 | 0.0248 0.0165 | 0.0206 | 0.054 |

| | | | | | |
|------------------------------|-------------|--------------|----------------|-------|------|
| p-Oxyacetophenon | 90 220 | 31.1 55.5 | 1.77 1.60 | 1.69 | 4.44 |
| Vanillin | 90 220 | 34.5 58.1 | 2.04 1.71 | 1.88 | 4.93 |
| Isoeugenol | 295 1600 | 16.2 38.1 | 0.260 0.130 | 0.195 | 0.51 |
| 1,3,5-Xylenol | 295 1070 | 29.7 62.0 | 0.519 0.393 | 0.456 | 1.20 |
| p-Nitrophenol | 90 220 | 28.2 48.0 | 1.60 1.30 | 1.45 | 3.81 |
| β -Glucosid von Phenol | 40 92 | 30.0 55.5 | 3.87 3.82 | 3.85 | 10.1 |
| p-Nitrophenol | 40 92 | 32.3 60.2 | 4.21 4.35 | 4.28 | 11.2 |

Tabelle 31.

Versuch mit Nr 7; ausgeführt
bei pH 7.0 anstatt 4.8.

| Substrat: β -Galaktosid von | t Min. | Spaltung % | 10 ³ .k | Mittel | Verhältnis |
|--------------------------------------|--------------|---------------|--------------------|--------|------------|
| Phenol | 290 1270 | 15.9 48.5 | 0.260 0.227 | 0.244 | 1 |
| o-Kresol | 290 1270 | 13.6 50.4 | 0.260 0.240 | 0.250 | 1.03 |
| p-Kresol | 290 1070 | 23.8 52.0 | 0.407 0.298 | 0.355 | 1.46 |
| m-Kresol | 290 1070 | 23.5 51.0 | 0.401 0.300 | 0.350 | 1.44 |
| Guajakol | 2420 321. | 15.9 18.6 | 0.0311 0.0278 | 0.0294 | 0.12 |
| Methylsalicylat | 2420 4210 | 8.0 8.8 | 0.0150 0.0095 | 0.0122 | 0.05 |
| p-Oxyacetophenon | 90 220 | 27.0 47.4 | 1.52 1.27 | 1.40 | 5.74 |
| Vanillin | 90 220 | 28.2 50.4 | 1.60 1.38 | 1.49 | 6.11 |
| Isoeugenol | 295 1600 | 8.8 22.1 | 0.136 0.068 | 0.102 | 0.42 |
| 1,3,5-Xylenol | 290 1270 | 17.4 46.8 | 0.286 0.216 | 0.251 | 1.03 |
| p-Nitrophenol | 90 220 | 22.1 35.7 | 1.21 0.89 | 1.05 | 4.30 |

Tabelle 32.

Versuch mit Nr. 8.

| Substrat: β -Galaktosid von | t Min. | Spaltung % | 10 ³ .k | Mittel | Verhältnis |
|--------------------------------------|----------------|----------------|--------------------|---------|------------|
| Phenol | 14070 28830 | 6.60 8.80 | 0.00211 0.00139 | 0.00175 | 1 |
| o-Kresol | 14070 28830 | 7.30 8.80 | 0.00234 0.00139 | 0.00187 | 1.07 |
| p-Kresol | 14070 28830 | 8.80 12.20 | 0.00284 0.00196 | 0.00240 | 1.37 |
| m-Kresol | 14070 28830 | 8.80 10.60 | 0.00284 0.00169 | 0.00227 | 1.30 |
| Salicylaldehyd | 10055 24215 | 26.4 36.9 | 0.0132 0.0083 | 0.0108 | 6.17 |
| p-Oxyacetophenon | 10055 24215 | 26.20 36.60 | 0.01310 0.00816 | 0.0107 | 6.11 |
| Vanillin | 10055 24215 | 25.20 37.50 | 0.01250 0.00843 | 0.0105 | 6.00 |
| 1,3,5-Xylenol | 14070 28830 | 7.30 8.30 | 0.00234 0.00139 | 0.00187 | 1.07 |
| p-Nitrophenol | 10055 24215 | 20.60 28.20 | 0.0100 0.00595 | 0.00798 | 4.56 |
| β -Glucosid von Phenol | 14070 28830 | 31.10 41.10 | 0.0115 0.00196 | 0.00973 | 5.56 |
| p-Nitrophenol | 14070 28830 | 22.80 30.30 | 0.00799 0.00542 | 0.00671 | 3.84 |

Tabelle 33.

Versuch mit Nr. 9.

| Substrat: β -Galaktosid von | t Min. | Spaltung % | 10 ³ .k | Mittel | Verhältnis |
|--------------------------------------|---------------|----------------|--------------------|---------|------------|
| Phenol | 28850 | 6.60 | 0.00103 | | 1 |
| o-Kresol | 28850 | 7.30 | 0.00114 | | 1.11 |
| p-Kresol | 28850 | 12.90 | 0.00208 | | 2.02 |
| m-Kresol | 28850 | 10.60 | 0.00169 | | 1.64 |
| p-Oxyacetophenon | 8400 24250 | 14.80 22.10 | 0.00828 0.00447 | 0.00638 | 6.20 |
| Vanillin | 8400 24250 | 15.90 25.20 | 0.00895 0.00520 | 0.00707 | 6.86 |
| p-Nitrophenol | 8400 24250 | 12.90 18.90 | 0.00714 0.00375 | 0.00545 | 5.3 |

F : Hemmungsversuche mit
jeder Fermentfraktionen
(Nr. 1-10) aus Ochsenleber.

Tabelle 34.

Versuch mit Nr. 1.

| Hemmungskörper | Spaltung % nach | |
|---------------------------------|-----------------|----------|
| | 197 Min. | 432 Min. |
| Ohne | 30 | 50 |
| o-Kresol- β -d-galaktosid | 20 | 27 |
| o-Kresol- β -d-glucosid | 20 | 30 |
| Galaktose | 30 | 50 |
| Glucose | 30 | 50 |
| Ca-galaktonat | 30 | 50 |
| Ca-gluconat | 10 | 17 |

Tabelle 35.

Versuch mit Nr. 3.

| Hemmungskörper | Spaltung % nach | |
|---------------------------------|-----------------|----------|
| | 50 Min. | 122 Min. |
| Ohne | 30 | 50 |
| o-Kresol- β -d-galaktosid | 22 | 35 |
| o-Kresol- β -d-glucosid | 20 | 30 |
| Galaktose | 30 | 50 |
| Glucose | 30 | 50 |
| Ca-galaktonat | 30 | 50 |
| Ca-gluconat | 10 | 18 |

Tabelle 36.

Versuch mit Nr. 4.

| Hemmungskörper | Spaltung % nach | |
|---------------------------------|-----------------|-----------|
| | 1405 Min. | 3845 Min. |
| Ohne | 25 | 35 |
| o-Kresol- β -d-galaktosid | 18 | 25 |

| | | |
|-------------------------------|----|----|
| o-Kresol- β -d-glucosid | 15 | 22 |
| Galaktose | 25 | 35 |
| Glucose | 25 | 35 |
| Ca-galaktonat | 25 | 35 |
| Ca-gluconat | 8 | 14 |

Tabelle 37.

Versuch mit Nr. 5.

| Hemmungskörper | Spaltung % nach | |
|---------------------------------|-----------------|-----------|
| | 260 Min. | 1325 Min. |
| Ohne | 25 | 45 |
| o-Kresol- β -d-galaktosid | 20 | 35 |
| o-Kresol- β -d-glucosid | 17 | 30 |
| Galaktose | 25 | 45 |
| Glucose | 25 | 45 |
| Ca-galaktonat | 25 | 45 |
| Ca-gluconat | 8 | 15 |

Tabelle 38.

Versuch mit Nr. 6.

| Hemmungskörper | Spaltung % nach | |
|---------------------------------|-----------------|----------|
| | 40 Min. | 135 Min. |
| Ohne | 20 | 40 |
| o-Kresol- β -d-galaktosid | 15 | 25 |
| o-Kresol- β -d-glucosid | 13 | 20 |
| Galaktose | 20 | 40 |
| Glucose | 20 | 40 |
| Ca-galaktonat | 20 | 40 |
| Ca-gluconat | 7 | 10 |

Tabelle 39.

Versuch mit Nr. 8.

| Hemmungskörper | Spaltung % nach | |
|---------------------------------|-----------------|-----------|
| | 2560 Min. | 5455 Min. |
| Ohne | 27 | 35 |
| o-Kresol- β -d-galaktosid | 15 | 20 |
| o-Kresol- β -d-glucosid | 10 | 15 |
| Galaktose | 27 | 35 |
| Glucose | 27 | 35 |
| Ca-galaktonat | 27 | 35 |
| Ca-gluconat | 5 | 8 |

Tabelle 40.

Versuch mit Nr. 8; ausgeführt bei pH 7.6 anstatt 4.8.

| Hemmungskörper | Spaltung % nach | |
|---------------------------------|-----------------|-----------|
| | 2605 Min. | 5455 Min. |
| Ohne | 15 | 24 |
| o-Kresol- β -d-galaktosid | 8 | 14 |
| o-Kresol- β -d-glucosid | 5 | 10 |
| Galaktose | 15 | 24 |
| Glucose | 15 | 24 |
| Ca-galaktonat | 15 | 24 |
| Ca-gluconat | 15 | 24 |

Tabelle 41.

Versuch mit Nr. 9.

| Hemmungskörper | Spaltung % nach | |
|---------------------------------|-----------------|-----------|
| | 3995 Min. | 8640 Min. |
| Ohne | 20 | 30 |
| o-Kresol- β -d-galaktosid | 15 | 20 |
| o-Kresol- β -d-glucosid | 8 | 15 |
| Galaktose | 20 | 30 |
| Glucose | 20 | 30 |

| | | |
|---------------|----|----|
| Ca-galaktonat | 20 | 30 |
| Ca-gluconat | 5 | 8 |

Tabelle 42.

Versuch mit Nr. 10; ausgeführt bei pH 6.8 anstatt 4.8.

| Hemmungskörper | Spaltung % nach | |
|---------------------------------|-----------------|-----------|
| | 890 Min. | 2100 Min. |
| Ohne | 25 | 40 |
| o-Kresol- β -d-galaktosid | 15 | 25 |
| o-Kresol- β -d-glucosid | 13 | 20 |
| Galaktose | 25 | 40 |
| Glucose | 25 | 40 |
| Ca-galaktonat | 25 | 40 |
| Ca-gluconat | 25 | 40 |

G: Bestimmung des pH-Optimums an Fermentfraktionen (Nr. 1-6) aus Ochsenleder.

Tabelle 43.

Versuch mit Nr. I. Substrat: 0.012 m. o-Kresol- β -d-galaktosid.

| pH | | Spaltung % nach | |
|--------|------|-----------------|-----------|
| Anfang | Ende | 960 Min. | 2340 Min. |
| 4.0 | 3.8 | 0 | 0 |
| 4.4 | 4.3 | 1.0 | 2.0 |
| 5.0 | 5.0 | 38.1 | 66.7 |
| 5.6 | 5.6 | 37.5 | 68.0 |
| 6.0 | 6.0 | 37.5 | 64.0 |
| 6.4 | 6.4 | 36.9 | 64.0 |
| 6.8 | 6.8 | 36.3 | 61.7 |
| 7.3 | 7.2 | 36.0 | 56.7 |
| 7.6 | 7.6 | 33.4 | 52.3 |

| | | | |
|-----|-----|------|------|
| 8.0 | 7.9 | 24.4 | 35.4 |
| 8.7 | 8.4 | 0 | 0 |

Tabelle 44.

Versuch mit Nr. 2. Substrat:
0.0024 m. p-Nitrophenol- β -d-
galaktosid.

| pH | | Spaltung % nach | |
|--------|------|-----------------|----------|
| Anfang | Ende | 220 Min. | 2240 Min |
| 4.4 | 4.5 | 4 | 7 |
| 5.0 | 5.0 | 15 | 28 |
| 6.2 | 6.2 | 14 | 28 |
| 6.8 | 6.8 | 13 | 35 |
| 7.4 | 7.4 | 12 | 23 |
| 8.2 | 8.0 | 11 | 20 |

Tabelle 45.

Versuch mit Nr. 3. Substrat:
0.0024 m. p-Nitrophenol- β -d-
galaktosid.

| pH | | Spaltung % nach | |
|--------|------|-----------------|----------|
| Anfang | Ende | 52 Min. | 128 Min. |
| 4.6 | 4.6 | 20 | 30 |
| 5.0 | 5.0 | 32 | 53 |
| 6.2 | 6.2 | 30 | 50 |
| 7.2 | 7.2 | 30 | 48 |
| 8.2 | 8.0 | 25 | 40 |

Tabelle 46.

Versuch mit Nr. 4. Substrat:
0.0024 m. p-Nitrophenol- β -d-
galaktosid.

| pH | | Spaltung % nach | |
|--------|------|-----------------|-----------|
| Anfang | Ende | 1605 Min. | 3845 Min. |
| 4.2 | 4.5 | 20 | 28 |

| | | | |
|-----|-----|----|----|
| 4.8 | 5.0 | 30 | 35 |
| 6.0 | 6.0 | 28 | 35 |
| 7.0 | 7.0 | 28 | 35 |
| 8.2 | 8.0 | 25 | 33 |

Tabelle 47.

Versuch mit Nr. 5. Substrat:
0.0024 m. p-Nitrophenol- β -d-
galaktosid.

| pH | | Spaltung % nach | |
|--------|------|-----------------|-----------|
| Anfang | Ende | 257 Min. | 1325 Min. |
| 4.0 | 4.3 | 2 | 2 |
| 4.2 | 4.6 | 10 | 15 |
| 5.0 | 5.0 | 23 | 45 |
| 6.2 | 6.2 | 25 | 45 |
| 7.2 | 7.0 | 25 | 45 |
| 8.2 | 8.0 | 20 | 30 |

Tabelle 48.

Versuch mit Nr. 6. Substrat:
0.0024 m. p-Nitrophenol- β -d-
galaktosid.

| pH | | Spaltung % nach | |
|--------|------|-----------------|----------|
| Anfang | Ende | 40 Min. | 135 Min. |
| 4.2 | 4.4 | 12 | 18 |
| 4.4 | 4.6 | 20 | 30 |
| 5.0 | 5.0 | 22 | 40 |
| 6.0 | 6.0 | 20 | 40 |
| 6.8 | 6.8 | 20 | 40 |
| 7.2 | 7.0 | 18 | 38 |
| 8.2 | 8.0 | 15 | 30 |

Tabelle 49.

Versuch mit Nr. 8. Substrat:

0,0024 m. p-Nitrophenol- β -d-galaktosid.

| pH | | Spaltung % nach | |
|--------|------|-----------------|-----------|
| Anfang | Ende | 2565 Min. | 5455 Min. |
| 4.2 | 4.4 | 7 | 12 |
| 5.2 | 5.2 | 18 | 25 |
| 6.4 | 6.4 | 17 | 24 |
| 7.0 | 7.0 | 15 | 24 |
| 7.4 | 7.2 | 15 | 24 |
| 8.2 | 8.0 | 10 | 18 |

Tabelle 50.

Versuch mit Nr. 9. Substrat:
0,0024 m. p-Nitrophenol- β -d-galaktosid.

| pH | | Spaltung % nach | |
|--------|------|-----------------|------------|
| Anfang | Ende | 3775 Min. | 12795 Min. |
| 4.4 | 4.4 | 7 | 12 |

| | | | |
|-----|-----|----|----|
| 5.2 | 5.2 | 17 | 30 |
| 6.4 | 6.4 | 15 | 30 |
| 7.0 | 7.0 | 13 | 30 |
| 7.4 | 7.4 | 12 | 25 |
| 8.2 | 8.0 | 6 | 20 |

H: Inaktivierungsversuche durch
H-Ionen mit Fermentfraktion
Nr. 3 aus Ochsenleber.

Tabelle 51.

Substrat: 0,012 m. p-Kresol- β -
d-galaktosid.

| Fermentlösung | t Min. | Spalt- ung % | 10 ³ . k | Verh- ältnis |
|--|-----------|-----------------|---------------------|-----------------|
| Ohne Behandeln. | 1363 | 86.2 | 0.632 | 1 |
| Bei 27°, pH 4.4*, 3 Min. aufbewahrt. | 1363 | 45.5 | 0.194 | 0.307 |

* Mit 0.1 Mol Acetatpuffer ang-
essäuert.

IV. Spezifität der β -Galaktosidasen von Hepatopankreas der Schnecke, *Eulota peliomphala*.

In den Hemmungsversuchen, die im zweiten Kaptel dieser Mitteilungen beschrieben sind, hat der Verfasser beobachtet, dass die Wirkung eines β -Galaktosidasepräparates aus der Schnecke, *Eulota peliomphala*, nicht nur durch Verbindungen der Galaktosereihe sondern auch durch o-Kresol- β -glucosid sowie Ca-gluconat deutlich gehemmt wird. Fernerhin erwies sich das Aktivitätsverhältnis dieses Fermentpräparates gegenüber einigen β -Galaktosiden, wie Salicylaldehyd-, Vanillin-, p-Nitrophenol- β -galaktosid, als ganz verschieden sowohl von demjenigen des Aprikose-emulsins und der Takadiastase. Ohne experimentelle Begründung zu geben, wurde damals eine Vermutung geäußert, dass das Präparat ein Gemisch der β -Galaktosidasen Emulsin- und Taka-typs im Sinne der Akamatsuschen Schule, ^{6) 7)} darstellen könnte. In Anbetracht der Befunde, dass es aber auch andere, bezüglich des Hemmungsverhaltens *) sowie des Aktivitätsverhältnisses **) weder

*) T. Miwa, K. Nisizawa u. K. Tanaka, unveröffentlicht.

**). Das Aktivitätsverhältnis der β -Galaktosidae von Ochsenleber; siehe das Kapitel III.

Emulsin- noch Taka-typ angehörende Enzymtypen gibt, scheint es uns nicht ausgeschlossen zu sein, dass die Schnecken- β -galaktosidase auch ein einheitliches, neues Ferment-typ darstellt.

Bei der vorliegenden Arbeit hofften wir durch Fraktionierungsversuche festzustellen, ob in dem Schneckenhepatopankreas mehr als zweielei β -Galaktosidasen verschiedenen Hemmungsverhaltens und Aktivitätsverhältnisses enthalten sind oder nicht. Die Resultate werden in Tabelle 1 zusammengestellt.

Tabelle 1.

Fraktionierung der β -Galaktosidase von Schneckenhepatopankreas.

Fermentfraktion:

- Nr. 1. Aus dem Acetonpräparat des Hepatopankreas wurde die Enzymlösung durch Extrahieren mit 20-facher Menge 0.05n-NH₃ erhalten, die, nach Neutralisieren und Dialyse, von entstandenem Niederschlag befreit wurde.
- Nr. 2. Der Niederschlag, der sich bei der Herstellung von Nr. 1 bildete, wurde in wenig Wasser suspendiert.
- Nr. 3. Fermentlösung Nr. 1 wurde bei pH 4.5 an Tonerde B adsorbiert, daraus mit Phosphatgemisch von pH 5.5 eluiert und wiederum auf pH 4.8 umgestellt.
- Nr. 4. Fermentlösung Nr. 1 wurde bei pH 5.5 an Tonerde B adsorbiert, daraus mit Acetatgemisch von pH 4.8 eluiert.
- Nr. 5. Fermentlösung Nr. 4 wurde etwa 10-fach verdünnt, Aktivität derselben wurde bei pH 2.8 (Citrat-HCl-Gemisch) anstatt bei pH 4.8 bestimmt.
- Nr. 6. Restlösung der Tonerde B-Adsorption bei pH 5.5 (Nr. 4), dialysiert und konzentriert.
- Nr. 7. Fermentlösung Nr. 1 wurde bei pH 5.5 an Tonerde B adsorbiert, nach vorelution mit Acetatgemisch von pH 4.5, mit Phosphatgemisch von pH 7.2 eluiert und auf pH 4.8 umgestellt.
- Nr. 8. Fermentlösung Nr. 6 wurde nach Voradsorption bei pH 6.8 mit Tonerde B, bei pH 4.5 an Tonerde adsorbiert, mit 0.05 n-NH₃ eluiert und zu pH 4.8 gebracht.
- Nr. 9. Fermentlösung Nr. 6 wurde bei pH 2.4 an Tonerde B adsorbiert, Restlösung daraus 2 Tage bei pH 2.4 bei Zimmertemperatur stehengelassen, neutralisiert, dialysiert, konzentriert und vom entstandenen Niederschlag abfiltriert.

Hemmungstyp (siehe das Kapitel II):
 E..... Emulsin-typ; T..... Taka-typ.

| Nr. der Fermentlösung | Hemmungstyp | β-Galaktosid von | | | | | | | | | | | | β-Glucosid von | |
|-----------------------|-------------|------------------|----------|----------|----------|----------|----------------|-------------------|------------------|----------|------------|---------------|---------------|----------------|---------------|
| | | Phenol | o-Kresol | p-Kresol | m-Kresol | Guajakol | Salicylaldehyd | Methylallylacetat | p-Oxyacetophenon | Vanillin | Isoeugenol | 1,3,5-Xylenol | p-Nitrophenol | Phenol | p-Nitrophenol |
| 1 | E+T | 1 | 1.39 | 1.07 | 1.17 | 0.59 | 2.43 | 0.89 | 2.45 | 3.30 | 0.67 | 1.04 | 5.30 | 4.90 | 13.9 |
| 2 | E+T | 1 | 1.23 | 1.23 | 1.23 | 0.79 | 2.27 | 0.93 | 1.52 | 3.11 | 0.54 | 1.16 | 3.37 | 15.0 | 22.5 |
| 3 | E+T | 1 | 0.98 | 0.92 | 1.05 | 0.55 | 1.89 | 0.77 | 2.10 | 3.10 | 0.48 | 1.08 | 4.03 | 22.8 | 21.9 |
| 4 | T | 1 | 1.10 | 1.00 | 0.97 | 0.54 | 0.67 | 0.60 | 0.88 | 0.87 | 0.32 | 0.74 | 1.03 | — | 0.13 |
| 5 | — | 1 | 1.17 | 1.13 | 0.85 | 0.57 | 0.45 | 0.64 | 0.86 | 0.86 | 0.40 | 0.73 | 1.09 | — | — |
| 6 | E+T | 1 | 1.30 | 0.97 | 1.32 | 0.82 | 3.20 | 0.92 | 4.20 | 6.50 | 0.58 | 0.90 | 6.17 | 22.0 | 28.8 |
| 7 | — | 1 | 1.10 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | 2.46 | 2.24 | 8.58 |
| 8 | E | 1 | 1.12 | 0.80 | 0.92 | 0.69 | 4.60 | 0.71 | 4.30 | 5.20 | 0.73 | 0.81 | 7.50 | — | 36.2 |
| 9 | T | 1 | 1.02 | 1.00 | 0.99 | 0.63 | 0.84 | 0.70 | 0.97 | 1.09 | 0.48 | 0.86 | 1.10 | 7.83 | 7.24 |

Daraus ist zu ersehen, dass die in Schneckenhepatopankreas enthaltene β-Galaktosidase ein Gemisch der Enzyme von Emulsin- und Taka-typ darstellt, das sich durch geeignetes Verfahren in einzelne Komponente von je bestimmtem Hemmungsverhalten trennen lässt. Solche dualistische Natur der Schnecken-β-galaktosidase kann man auch in ihrer pH-Abhängigkeit erkennen. Wie aus Abbildung 1 ersichtlich, weist die Aktivitäts-pH-Kurve der

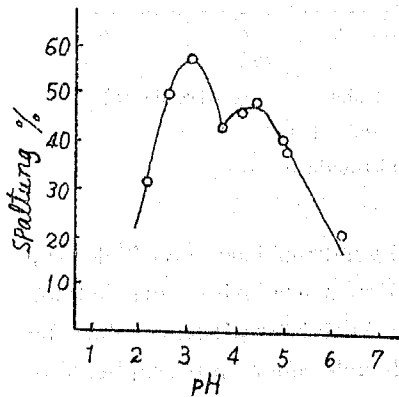


Fig. 1.

Aktivitäts-pH-Kurve der Fermentlösung Nr. 1. Substrat: p-Nitrophenol-β-galaktosid.

Ausgangsfermentlösung zweigipfligen Verlauf auf, was man als Beweis dafür betrachten darf, dass darin ein Gemisch zweier Enzyme mit verschiedenen pH-Optima vorliegt. Die Spaltung des p-Nitrophenol-β-galaktosids durch Fermentfraktion Nr. 4 wurde durch Verbindungen der Galaktosereihe spezifisch gehemmt, während Glucose, Glucensäure sowie β-Glucosid gar keinen Einfluss darauf ausüben.

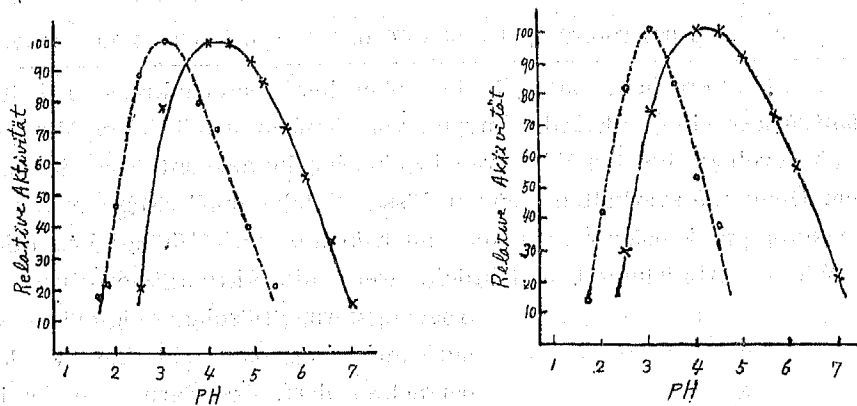
Zieht man das Hemmungsverhalten in Betracht, so scheinen diese Fermentfraktionen nur die β-Galaktosidase von Taka-typ zu enthalten und die Beimengung

des Enzyms von Emulsin-typ ist keineswegs wahrzunehmen. Hingegen weicht das Aktivitätsverhältnis in der Spaltung einiger β -Galaktoside durch dieser Fermentfraktionen von demjenigen der Takadiastase ab, wie folgende Zusammenstellung ergibt.

| Enzym | Substrat: β -Galaktosid von | | | |
|----------------|-----------------------------------|-----------------|------------|-----------------|
| | m-Kresol | Methylsalicylat | Isoeugenol | 1, 3, 5-Xylenol |
| Fraktion Nr. 5 | 0.85 | 0.64 | 0.40 | 0.73 |
| Takadiastase | 1.39 | 0.17 | 0.74 | 1.45 |

(Aktivität gegen Phenol- β -galaktosid als 1 gesetzt.)

Diese Ergebnisse lassen uns notwendigerweise annehmen, dass die β -Galaktosidase des Schneckenhepatopankreas, die das Hemmungsverhalten von Taka-typ erweist, von derjenigen der Takadiastase verschieden sei. Weiterhin tritt die Verschiedenheit auch in der pH-Abhängigkeit dieser beiden Enzyme deutlich hervor, wie Abbildung 2 zeigt.



(a). Substrat : Phenol- β -galaktosid (b). Substrat : p-Nitrophenol- β -galaktosid

Fig. 2.

Aktivitäts-pH-Kurven der Schnecken- β galaktosidase (.....)
und β -Galaktosidase der Takadiastase (—).

Also ist das pH-Optimum der Schnecken- β -galaktosidase von Taka-typ gegenüber dem der Takadiastase etwa pH 1.25 an saure Seite verschoben. Hierzu ist noch zu bemerken, dass die Form der Aktivitäts-pH-Kurve dieselbe bleibt, falls man als Substrat entweder Phenol- oder p-Nitrophenol- β -galaktosid anwendet.

Vergleicht man das Aktivitätsverhältnis der Enzymfraktion Nr. 8, die das Hemmungsverhalten des Emulsin-typs—obgleich es nicht vollkommen—aufzeigt, mit dem der β -Galaktosidase von Aprikose-emulsin, so ergibt sich

auch ein ausgeprägter Unterschied, wie folgt.

| Enzym | Substrat: β -Galaktosid von | | | | |
|------------------|-----------------------------------|----------|-------------------|------------|---------------|
| | o-Kresol | m-Kresol | p-Oxyaceto-phenon | Isoeugenol | 1,3,5-Xylenol |
| Fraktion Nr. 8 | 1.12 | 0.92 | 4.30 | 0.73 | 0.81 |
| Aprikose-emulsin | 16.0 | 3.61 | 2.21 | 0.39 | 6.73 |

(Aktivität gegen Phenol- β -galaktosid als 1 gesetzt.)

Daher erscheint es mir nicht berechtigt, diese beiden Fermente miteinander als identisch zu betrachten, wenn auch das Verhalten gegenüber den Hemmungskörpern gleichartig ist.

Der Verlauf der Aktivitäts-pH-Kurve beider β -Galaktosidasen ist im grossen und ganzen derselbe, wie aus Abbildung 3 ersichtlich.

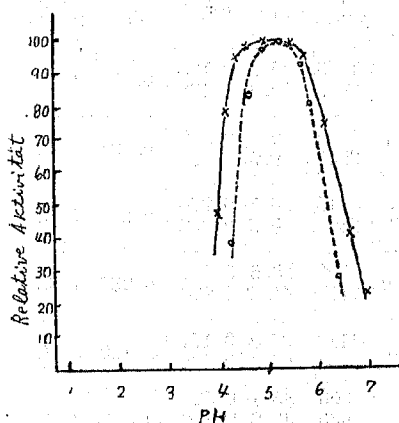


Fig. 3

Aktivitäts-pH-Kurve der β -Galaktosidase von Aprikose-emulsin (—) und Schnecken-ferment des Emulsin-typs (.....). Substrat : p-Nitro-Phenol- β -galaktosid.

Alle dieser Resultaten deuten somit darauf hin, dass das Hepatopankreas dieser Schnecke wenigstens zwei, voneinander verschiedene β -Galaktosidasen enthält. Jedes Ferment weist dasselbe Hemmungsverhalten wie je Aprikose-emulsin bzw. Takadiastase auf, woraus man mit Wahrscheinlichkeit annehmen kann, dass derjenige Anteil im Molekül jeder Schnecken- β -galaktosidase, der für das Hemmungsverhalten verantwortlich ist, gleich oder wenigstens ähnlich gebaut sein sollte mit dem entsprechenden Molekülanteil von Aprikose-emulsin bzw. Takadiastase.

Bei der das Hemmungsverhalten von Taka-typ aufzeigende β -Galaktosidase der Schnecke, sind sowohl das Aktivitätsverhältnis gegenüber verschiedenen β -Galaktosiden als auch die Aktivitäts-pH-Kurve, von den entsprechenden Eigenschaften der β -Galaktosidase der Takadiastase verschieden. Demnach können diejenigen Anteile im Bau der Enzymmolekül, die diese Eigenschaften bedingen, bei beiden β -Galaktosidasen miteinander nicht identisch sein.

Der Unterschied in dem Aktivitätsverhältnis zwischen der β -Galaktosidase des Aprikose-emulsins und der Schnecken-ferment des Emulsin-typs, lässt uns auch annehmen, dass diejenige Struktur im Enzymmolekül, die das Aktivitätsverhältnis bestimmt, bei beiden β -Galaktosidasen voneinander

verschieden sei.

Versuche.

Die Versuchsmethoden sind dieselbe wie im dritten Kapitel beschriebenen.

Protokolle.

A: Bestimmung des Aktivitätsverhältnisses von Fermentfraktionen, Nr.

1—9.

Tabelle 2.

Versuch mit dem Ferment-
präparat Nr. 1.

| Substrat: β-Galakt- osid von | t Min. | Spal- tung % | 10 ³ .k | Mit- tel | Verh- ältnis |
|------------------------------------|-----------|--------------------|--------------------|-------------|-----------------|
| Phenol | 425 | 15.6 | 0.174 | 0.153 | 1 |
| | 1445 | 42.9 | 0.169 | | |
| | 2877 | 62.0 | 0.146 | | |
| o-Kresol | 1144 | 47.1 | 0.191 | 0.212 | 1.39 |
| | 2877 | 78.7 | 0.233 | | |
| p-Kresol | 1449 | 44.2 | 0.175 | 0.163 | 1.07 |
| | 2877 | 63.0 | 0.150 | | |
| m-Kresol | 1451 | 43.9 | 0.173 | 0.180 | 1.17 |
| | 1635 | 50.7 | 0.187 | | |
| | 2900 | 70.1 | 0.180 | | |
| Guajakol | 1457 | 25.2 | 0.0865 | 0.0896 | 0.59 |
| | 1430 | 24.9 | 0.0869 | | |
| | 2900 | 71.0 | 0.0953 | | |
| Salicyl- aldehyd | 340 | 33.4 | 0.519 | 0.371 | 2.43 |
| | 1328 | 60.2 | 0.301 | | |
| | 1431 | 62.0 | 0.294 | | |
| Methyl- salicylat | 1330 | 35.1 | 0.141 | 0.136 | 0.89 |
| | 1423 | 35.4 | 0.133 | | |
| | 2910 | 39.6 | 0.135 | | |
| p-Oxyace- tophenon | 340 | 27.3 | 0.407 | 0.375 | 2.45 |
| | 1332 | 65.0 | 0.342 | | |
| Vanillin | 312 | 37.2 | 0.647 | 0.499 | 3.3 |
| | 1453 | 68.7 | 0.348 | | |
| Iso- eugenol | 1325 | 26.7 | 0.102 | 0.103 | 0.67 |
| | 1431 | 29.1 | 0.104 | | |
| | 2910 | 50.4 | 0.104 | | |
| 1,3,5- Xylenol | 1424 | 39.4 | 0.153 | 0.160 | 1.04 |
| | 1455 | 39.8 | 0.151 | | |
| | 2900 | 69.5 | 0.178 | | |
| p-Nitro- phenol | 192 | 29.4 | 0.787 | 0.821 | 5.3 |
| | 445 | 58.4 | 0.856 | | |
| β-Glucos- id von Phenol | 136 | 21.7 | 0.781 | 0.753 | 4.9 |
| | 357 | 44.9 | 0.725 | | |

| | | | | | |
|--------------------|------------|--------------|----------------|-------|------|
| p-Nitro- phenol | 167 440 | 53.7 89.9 | 2.003 2.262 | 2.132 | 13.9 |
|--------------------|------------|--------------|----------------|-------|------|

Tabelle 3.

Versuch mit dem Fermentpräpa-
rat Nr. 2.

| Substrat: β-Galakt- osid von | t Min. | Spal- tung % | 10 ³ .k | Mit- tel | Verh- ältnis |
|------------------------------------|-----------|--------------------|--------------------|-------------|-----------------|
| Phenol | 1365 | 45.5 | 0.193 | 0.191 | 1 |
| | 2805 | 70.4 | 0.188 | | |
| o-Kresol | 1110 | 49.7 | 0.269 | 0.235 | 1.23 |
| | 2555 | 69.5 | 0.202 | | |
| p-Kresol | 1115 | 50.1 | 0.270 | 0.236 | 1.23 |
| | 2557 | 69.5 | 0.202 | | |
| m-Kresol | 560 | 28.5 | 0.261 | 0.235 | 1.23 |
| | 1110 | 41.5 | 0.210 | | |
| Guajakol | 1112 | 35.4 | 0.171 | 0.150 | 0.79 |
| | 2554 | 53.4 | 0.128 | | |
| Salicyl- aldehyd | 360 | 35.1 | 0.521 | 0.435 | 2.27 |
| | 560 | 46.8 | 0.489 | | |
| | 1110 | 53.0 | 0.295 | | |
| Methyl- salicylat | 1115 | 39.8 | 0.198 | 0.178 | 0.93 |
| | 2557 | 60.8 | 0.158 | | |
| p-Oxyace- tophenon | 360 | 17.7 | 0.235 | 0.291 | 1.52 |
| | 560 | 35.1 | 0.335 | | |
| | 1110 | 54.0 | 0.304 | | |
| Vanillin | 445 | 53.4 | 0.744 | 0.595 | 3.11 |
| | 1457 | 77.5 | 0.445 | | |
| Iso- eugenol | 1397 | 30.9 | 0.114 | 0.104 | 0.54 |
| | 2792 | 45.2 | 0.0936 | | |
| 1,3,5- Xylenol | 1112 | 52.0 | 0.287 | 0.221 | 1.16 |
| | 2554 | 68.0 | 0.155 | | |
| p-Nitro- phenol | 174 | 26.4 | 0.765 | 0.661 | 3.46 |
| | 299 | 38.4 | 0.705 | | |
| | 1105 | 72.9 | 0.513 | | |
| β-Glucos- id von Phenol | 46 | 23.1 | 2.48 | 2.86 | 15.0 |
| | 138 | 64.4 | 3.24 | | |
| p-Nitro- phenol | 33 | 27.6 | 4.25 | 4.30 | 22.5 |
| | 78 | 54.3 | 4.36 | | |

Tabelle 4.

Versuch mit dem Fermentpräparat
Nr. 3.

| Substrat: β-Galakt- osid von | t Min. | Spal- tung % | 10 ³ . k | Mitt- el | Verh- ältnis |
|------------------------------------|---------------------|----------------------|-------------------------|-------------|-----------------|
| Phenol | 2713 5370 | 29.7 57.0 | 0.0564 0.0682 | 0.0623 | 1 |
| o-Kresol | 3965 5450 | 42.6 53.7 | 0.0607 0.0614 | 0.0611 | 0.98 |
| p-Kresol | 2505 5370 | 26.7 56.7 | 0.0539 0.0607 | 0.0573 | 0.92 |
| m-Kresol | 2560 5370 | 32.7 54.0 | 0.0677 0.0628 | 0.0652 | 1.05 |
| Guajakol | 2505 8425 | 15.9 52.0 | 0.0300 0.0378 | 0.0339 | 0.55 |
| Salicyl- aldehyd | 1120 2560 | 25.8 50.4 | 0.116 0.119 | 0.118 | 1.89 |
| Methyl- salicylat | 2713 5370 | 23.1 48.8 | 0.0421 0.0541 | 0.0481 | 0.77 |
| p-Oxyace- tophenon | 1120 2560 | 32.3 50.7 | 0.151 0.120 | 0.131 | 2.10 |
| Vanillin | 1120 2560 | 46.2 57.5 | 0.240 0.145 | 0.193 | 3.10 |
| Iso- eugenol | 2560 4720 | 17.7 25.5 | 0.0330 0.0271 | 0.0301 | 0.48 |
| 1, 3, 5- Xlenol | 2505 5370 | 28.5 61.4 | 0.0581 0.0770 | 0.0675 | 1.08 |
| p-Nitro- phenol | 268 1070 3105 | 22.1 40.5 62.7 | 0.405 0.211 0.138 | 0.251 | 4.03 |
| β-Glucos- id von Phenol | 125 262 | 25.5 58.4 | 1.02 1.45 | 1.42 | 22.8 |
| p-Nitro- phenol | 142 260 | 33.0 58.4 | 1.22 1.46 | 1.34 | 21.9 |

Tabelle 5.

Versuch mit dem Fermentpräparat
Nr. 4.

| Substrat: β-Galakt- osid von | t Min. | Spal- tung % | 10 ³ . k | Mit- tel | Verh- ältnis |
|------------------------------------|--------------|--------------------|---------------------|-------------|-----------------|
| Phenol | 1100 1555 | 63.0 72.6 | 0.393 0.362 | 0.377 | 1 |

| | | | | | |
|--|--------------|--------------|------------------|--------|------|
| o-Kresol | 400 1425 | 33.0 72.6 | 0.439 0.395 | 0.417 | 1.1 |
| p-Kresol | 1100 1555 | 62.7 72.6 | 0.389 0.362 | 0.376 | 1.0 |
| m-Kresol | 400 1425 | 28.8 69.5 | 0.369 0.362 | 0.365 | 0.97 |
| Guajakol | 400 1050 | 17.1 38.4 | 0.204 0.201 | 0.203 | 0.54 |
| Salicyl- aldehyd | 400 1425 | 24.6 47.6 | 0.307 0.196 | 0.251 | 0.67 |
| Methyl- salicylat | 400 1530 | 20.1 51.7 | 0.244 0.207 | 0.226 | 0.60 |
| p-Oxyace- tophenon | 400 1425 | 25.5 65.3 | 0.340 0.322 | 0.331 | 0.88 |
| Vanillin | 300 1050 | 23.5 43.0 | 0.342 0.312 | 0.327 | 0.87 |
| Iso- eugenol | 400 4420 | 9.7 74.2 | 0.111 0.133 | 0.122 | 0.32 |
| 1, 3, 5- Xylenol | 400 1530 | 24.6 59.9 | 0.37 0.253 | 0.280 | 0.74 |
| p-Nitro- phenol | 1100 1555 | 64.0 73.5 | 0.403 0.370 | 0.387 | 1.03 |
| β-Glucos- id von p- Nitro- phenol | 1100 2580 | 12.9 24.1 | 0.0545 0.0464 | 0.0505 | 0.13 |

Tabelle 6.

Versuch mit dem Fermentpräparat
Nr. 5.

| Substrat: β-Galakt- osid von | t Min. | Spal- tung % | 10 ³ . k | Mit- tel | Verh- ältnis |
|------------------------------------|----------------------|----------------------|-------------------------|-------------|-----------------|
| Phenol | 1380 1737 | 56.1 64.0 | 0.251 0.255 | 0.253 | 1 |
| o-Kresol | 1377 1741 | 59.6 69.0 | 0.293 0.298 | 0.295 | 1.17 |
| p-Kresol | 1377 1741 | 58.4 68.5 | 0.276 0.290 | 0.286 | 1.13 |
| m-Kresol | 1377 1741 | 48.0 50.6 | 0.206 0.226 | 0.216 | 0.85 |
| Guajakol | 1545 1748 2825 | 41.3 43.2 61.1 | 0.150 0.141 0.145 | 0.144 | 0.57 |
| Salicyl- aldehyd | 1487 2825 | 32.3 53.0 | 0.114 0.116 | 0.115 | 0.45 |

| | | | | | |
|------------------|------|------|-------|-------|------|
| Methylsalicylat | 1487 | 42.2 | 0.160 | 0.162 | 0.64 |
| | 1750 | 47.1 | 0.158 | | |
| | 2825 | 66.4 | 0.168 | | |
| p-Oxyacetophenon | 1378 | 47.4 | 0.202 | 0.217 | 0.86 |
| | 1737 | 60.5 | 0.232 | | |
| Vanillin | 1378 | 49.1 | 0.213 | 0.218 | 0.86 |
| | 1741 | 59.0 | 0.222 | | |
| Isoeugenol | 1545 | 30.0 | 0.100 | 0.100 | 0.40 |
| | 2825 | 48.0 | 0.101 | | |
| 1,3,5-Xylenol | 1487 | 48.0 | 0.191 | 0.184 | 0.73 |
| | 1748 | 54.0 | 0.193 | | |
| | 2825 | 66.4 | 0.168 | | |
| p-Nitrophenol | 419 | 26.4 | 0.318 | 0.275 | 1.09 |
| | 1380 | 58.4 | 0.277 | | |
| | 1722 | 59.6 | 0.229 | | |

Tabelle 7.

Versuch mit dem Fermentpräparat
Nr. 6.

| Substrat: β-Galaktosid von | t Min. | Spaltung % | 10 ³ .k | Mittel | Verhältnis |
|-------------------------------|-----------|---------------|--------------------|--------|------------|
| Phenol | 2742 | 25.8 | 0.0472 | 0.0472 | 1 |
| | 5575 | 47.1 | 0.0496 | | |
| o-Kresol | 1080 | 14.8 | 0.0644 | 0.0621 | 1.30 |
| | 7130 | 62.0 | 0.0598 | | |
| p-Kresol | 2590 | 25.8 | 0.0500 | 0.0456 | 0.97 |
| | 5520 | 40.8 | 0.0412 | | |
| m-Kresol | 1015 | 14.8 | 0.0685 | 0.0622 | 1.32 |
| | 3925 | 43.2 | 0.0626 | | |
| | 6075 | 54.0 | 0.0555 | | |
| Guajakol | 5520 | 36.0 | 0.0351 | 0.0387 | 0.82 |
| | 10120 | 62.7 | 0.0423 | | |
| Salicylaldehyd | 1015 | 31.4 | 0.161 | 0.152 | 3.20 |
| | 2470 | 55.8 | 0.144 | | |
| Methylsalicylat | 1405 | 12.6 | 0.0415 | 0.0432 | 0.92 |
| | 5520 | 43.5 | 0.0449 | | |
| p-Oxyacetophenon | 1015 | 41.0 | 0.226 | 0.200 | 4.2 |
| | 2470 | 62.7 | 0.173 | | |
| Vanillin | 975 | 59.0 | 0.397 | 0.310 | 6.5 |
| | 2470 | 72.1 | 0.224 | | |
| Isoeugenol | 3925 | 22.5 | 0.281 | 0.275 | 0.58 |
| | 6075 | 31.4 | 0.269 | | |
| 1,3,5-Xylenol | 2590 | 23.1 | 0.0403 | 0.0426 | 0.90 |
| | 5520 | 43.5 | 0.0449 | | |
| p-Nitrophenol | 214 | 19.5 | 0.440 | 0.292 | 6.17 |
| | 1430 | 55.5 | 0.246 | | |
| | 2590 | 67.5 | 0.189 | | |

| | | | | | |
|-----------------------|------|------|------|------|------|
| β-Glucosid von Phenol | 209 | 50.1 | 1.44 | 1.07 | 22.7 |
| | 1080 | 87.9 | 0.85 | | |
| | 1185 | 91.9 | 0.92 | | |
| p-Nitrophenol | 70 | 19.2 | 1.32 | 1.36 | 28.8 |
| | 209 | 58.4 | 1.87 | | |
| | 1185 | 91.0 | 0.88 | | |

Tabelle 8.

Versuch mit dem Fermentpräparat
Nr. 7.

| Substrat: β-Galaktosid von | t Min. | Spaltung % | 10 ³ .k | Mittel | Verhältnis |
|-------------------------------|-----------|---------------|--------------------|--------|------------|
| Phenol | 1125 | 20.4 | 0.0878 | 0.113 | 1 |
| | 2560 | 55.8 | 0.1385 | | |
| o-Kresol | 980 | 20.4 | 0.101 | 0.124 | 1.1 |
| | 3980 | 74.0 | 0.147 | | |
| p-Nitrophenol | 1125 | 59.9 | 0.353 | 0.278 | 2.46 |
| | 2560 | 69.5 | 0.202 | | |
| β-Glucosid von Phenol | 980 | 39.4 | 0.222 | 0.253 | 2.24 |
| | 1125 | 44.9 | 0.230 | | |
| | 2560 | 83.0 | 0.295 | | |
| | 3980 | 91.3 | 0.260 | | |
| p-Nitrophenol | 249 | 45.2 | 1.05 | 0.970 | 8.58 |
| | 1125 | 89.9 | 0.885 | | |

Tabelle 9.

Versuch mit dem Fermentpräparat
Nr. 8.

| Substrat: β-Galaktosid von | t Min. | Spaltung % | 10 ³ .k | Mittel | Verhältnis |
|-------------------------------|-----------|---------------|--------------------|--------|------------|
| Phenol | 7080 | 24.9 | 0.0176 | 0.0183 | 1 |
| | 11120 | 38.4 | 0.0190 | | |
| o-Kresol | 7080 | 28.5 | 0.0206 | 0.0206 | 1.12 |
| | 11120 | 40.8 | 0.0205 | | |
| p-Kresol | 7080 | 21.3 | 0.0147 | 0.0147 | 0.80 |
| | 11120 | 31.1 | 0.0146 | | |
| m-Kresol | 7080 | 23.5 | 0.0164 | 0.0168 | 0.92 |
| | 11120 | 35.7 | 0.0172 | | |
| Guajakol | 7080 | 18.3 | 0.0124 | 0.0127 | 0.69 |
| | 11120 | 28.2 | 0.0129 | | |
| Salicylaldehyd | 1307 | 22.5 | 0.0845 | 0.0849 | 4.6 |
| | 2560 | 37.2 | 0.0789 | | |
| | 3920 | 56.1 | 0.0912 | | |
| Methylsalicylat | 7080 | 18.9 | 0.0129 | 0.0129 | 0.71 |
| | 11120 | 28.2 | 0.0129 | | |

| | | | | | |
|------------------------------|-------|------|--------|--------|------|
| p-Oxyacetophenon | 720 | 13.3 | 0.0858 | 0.0783 | 4.3 |
| | 2320 | 31.1 | 0.0697 | | |
| | 4100 | 52.7 | 0.0792 | | |
| Vanillin | 1307 | 28.8 | 0.113 | 0.095 | 5.2 |
| | 2560 | 43.2 | 0.096 | | |
| | 3920 | 49.1 | 0.076 | | |
| Isoeugenol | 7080 | 19.2 | 0.0135 | 0.0133 | 0.73 |
| | 11120 | 28.5 | 0.0131 | | |
| 1,3,5-Xylenol | 7080 | 21.7 | 0.0150 | 0.0148 | 0.81 |
| | 11120 | 31.1 | 0.0146 | | |
| p-Nitrophenol | 606 | 18.9 | 0.150 | 0.137 | 7.50 |
| | 1250 | 30.0 | 0.124 | | |
| β-Glucosid von p-Nitrophenol | 155 | 20.1 | 0.629 | 0.662 | 36.2 |
| | 210 | 30.6 | 0.750 | | |
| | 1250 | 82.6 | 0.607 | | |

Tabelle 10.

Versuch mit dem Fermentpräparat Nr. 9.

| Substrat: β-Galaktosid von | t Min. | Spaltung % | 10% k | Mittel | Verhältnis |
|----------------------------|--------|------------|-------|--------|------------|
| | | | | | |
| Phenol | 1210 | 46.8 | 0.226 | 0.203 | 1 |
| | 2710 | 67.8 | 0.181 | | |
| o-Kresol | 1210 | 48.3 | 0.236 | 0.209 | 1.02 |
| | 2710 | 67.8 | 0.181 | | |
| p-Kresol | 1210 | 48.5 | 0.221 | 0.202 | 1.0 |
| | 2710 | 68.3 | 0.181 | | |
| m-Kresol | 456 | 21.3 | 0.228 | 0.200 | 0.99 |
| | 1466 | 51.3 | 0.214 | | |
| | 3026 | 66.4 | 0.157 | | |
| Guajakol | 1210 | 30.0 | 0.128 | 0.127 | 0.63 |
| | 2710 | 52.3 | 0.126 | | |
| Salicylaldehyd | 456 | 17.1 | 0.179 | 0.170 | 0.84 |
| | 1466 | 42.2 | 0.162 | | |
| Methylalicylat | 1205 | 34.5 | 0.153 | 0.143 | 0.70 |
| | 2710 | 56.1 | 0.132 | | |
| p-Oxyacetophenon | 456 | 19.5 | 0.207 | 0.196 | 0.97 |
| | 1466 | 51.7 | 0.215 | | |
| | 3026 | 68.7 | 0.167 | | |
| Vanillin | 456 | 26.2 | 0.288 | 0.222 | 1.09 |
| | 1466 | 51.0 | 0.211 | | |
| | 3026 | 68.7 | 0.167 | | |
| Isoeugenol | 456 | 12.9 | 0.132 | 0.098 | 0.48 |
| | 1466 | 27.0 | 0.093 | | |
| | 3026 | 38.1 | 0.069 | | |
| 1,3,5-Xylenol | 1210 | 42.9 | 0.201 | 0.175 | 0.86 |
| | 2710 | 60.2 | 0.148 | | |

| | | | | | |
|-----------------------|------|------|-------|-------|------|
| p-Nitrophenol | 1210 | 52.3 | 0.266 | 0.223 | 1.1 |
| | 2710 | 67.5 | 0.180 | | |
| β-Glucosid von Phenol | 85 | 22.1 | 1.28 | 1.59 | 7.83 |
| | 277 | 70.4 | 1.90 | | |
| p-Nitrophenol | 90 | 29.4 | 1.70 | 1.47 | 7.24 |
| | 240 | 66.0 | 1.94 | | |
| | 1210 | 88.6 | 0.78 | | |

B: Hemmungsversuche an Fermentfraktionen, Nr. 1-9. Substrat: p-Nitrophenol-β-d-galaktosid.

Tabelle 11.

Versuch mit dem Fermentpräparat Nr. 1.

| Hemmungskörper | Spaltung % nach | |
|-------------------------|-----------------|----------|
| | 120 Min. | 320 Min. |
| Ohne | 50 | 80 |
| o-Kresol-β-d-galaktosid | 30 | 52 |
| o-Kresol-β-d-glucosid | 30 | 52 |
| Galaktose | 50 | 80 |
| Glucose | 50 | 80 |
| Ca-galaktonat | 32 | 54 |
| Ca-gluconat | 28 | 54 |

Tabelle 12.

Versuch mit dem Fermentpräparat Nr. 2.

| Hemmungskörper | Spaltung % nach | |
|-------------------------|-----------------|----------|
| | 180 Min. | 300 Min. |
| Ohne | 40 | 70 |
| o-kresol-β-d-galaktosid | 25 | 50 |
| o-Kresol-β-d-glucosid | 27 | 52 |
| Galaktose | 40 | 70 |
| Glucose | 40 | 70 |
| Ca-galaktonat | 25 | 50 |
| Ca-gluconat | 20 | 48 |

Tabelle 13.

Versuch mit dem Fermentpräparat
Nr. 3.

| Hemmungs- körper | Spaltung % nach | |
|-----------------------------------|-----------------|-----------|
| | 400 Min. | 1080 Min. |
| Ohne | 32 | 50 |
| o-Kresol- β -d- glucosid | 20 | 30 |
| o-Kresol- β -d- glucosid | 20 | 30 |
| Galaktose | 27 | 50 |
| Glucose | 32 | 50 |
| Ca-galaktonat | 15 | 20 |
| Ca-gluconat | 13 | 20 |

Tabelle 14.

Versuch mit dem Fermentpräparat
Nr. 4.

| Hemmungs- körper | Spaltung % nach | |
|-------------------------------------|-----------------|-----------|
| | 315 Min. | 1770 Min. |
| Ohne | 30 | 60 |
| o-Kresol- β -d- galaktosid | 2 | 15 |
| o-Kresol- β -d- glucosid | 30 | 60 |
| Galaktose | 5 | 15 |
| Glucose | 30 | 60 |
| Ca-galaktonat | 2 | 10 |
| Ca-gluconat | 30 | 60 |

Tabelle 15.

Versuch mit dem Fermentpräparat
Nr. 6.

| Hemmungs- körper | Spaltung % nach | |
|-------------------------------------|-----------------|-----------|
| | 215 Min. | 1440 Min. |
| Ohne | 32 | 60 |
| o-Kresol- β -d- galaktosid | 20 | 46 |

| | | |
|-----------------------------------|----|----|
| o-Kresol- β -d- glucosid | 15 | 40 |
| Galaktose | 30 | 60 |
| Glucose | 30 | 60 |
| Ca-galaktonat | 15 | 38 |
| Ca-gluconat | 6 | 15 |

Tabelle 16.

Versuch mit dem Fermentpräparat
Nr. 8.

| Hemmungs- körper | Spaltung % nach | |
|-------------------------------------|-----------------|-----------|
| | 1320 Min. | 2775 Min. |
| Ohne | 40 | 55 |
| o-Kresol- β -d- galaktosid | 25 | 50 |
| o-Kresol- β -d- glucosid | 25 | 50 |
| Galaktose | 40 | 55 |
| Glucose | 40 | 55 |
| Ca-galaktonat | 35 | 50 |
| Ca-gluconat | 15 | 30 |

Tabelle 17.

Versuch mit dem Fermentpräparat
Nr. 9.

| Hemmungs- körper | Spaltung % nach | |
|-------------------------------------|-----------------|-----------|
| | 295 Min. | 1545 Min. |
| Ohne | 23 | 50 |
| o-Kresol- β -d- galaktosid | 2 | 15 |
| o-Kresol- β -d- glucosid | 23 | 50 |
| Galaktose | 2 | 15 |
| Glucose | 23 | 50 |
| Ca-galaktonat | 3 | 15 |
| Ca-gluconat | 20 | 50 |

C: Bestimmungen der optimalen
Wasserstoffzahl von Ferment-

fraktionen Nr. 1, 4, 8, Takadiastase und Aprikose-emulsin.

Tabelle 18.

Versuch mit dem Fermentpräparat Nr. 1. Substrat: p-Nitrophenol- β -d-galaktosid.

| pH | Spaltung % nach 150 Min. |
|-----|--------------------------|
| 2.2 | 31.7 |
| 2.5 | 50.0 |
| 3.0 | 57.0 |
| 3.7 | 42.6 |
| 4.0 | 46.2 |
| 4.2 | 48.0 |
| 4.8 | 41.8 |
| 5.0 | 38.8 |
| 6.2 | 21.3 |

Tabelle 19.

Versuch mit Takadiastase. 4% Lösung, dialysiert. Substrat: Phenol- β -d-galaktosid.

| pH | Spaltung % nach 30 Min. | Relative Aktivität |
|-----|-------------------------|--------------------|
| 2.0 | 0 | 0 |
| 2.5 | 8.0 | 20.4 |
| 3.0 | 30.3 | 76.9 |
| 3.4 | 36.9 | 93.7 |
| 3.6 | 37.4 | 94.9 |
| 4.0 | 39.4 | 100 |
| 4.4 | 39.4 | 100 |
| 4.8 | 36.9 | 93.7 |
| 5.2 | 34.1 | 86.6 |
| 5.6 | 28.5 | 72.3 |

| | | |
|-----|------|------|
| 6.0 | 22.8 | 57.9 |
| 6.6 | 14.1 | 35.8 |
| 7.0 | 6.2 | 15.7 |

Tabelle 20.

Versuch mit Takadiastase. 4% Lösung, dialysiert. Substrat: p-Nitrophenol- β -d-galaktosid.

| pH | Spaltung % nach 27 Min. | Relative Aktivität |
|-----|-------------------------|--------------------|
| 2.5 | 12.6 | 30.1 |
| 3.0 | 31.1 | 74.2 |
| 3.5 | 38.1 | 91.1 |
| 4.0 | 41.8 | 100 |
| 4.5 | 41.5 | 99.3 |
| 5.0 | 38.4 | 91.9 |
| 5.6 | 30.0 | 71.8 |
| 6.2 | 23.5 | 56.2 |
| 7.0 | 9.7 | 23.2 |

Tabelle 21.

Versuch mit dem Fermentpräparat Nr. 4. Substrat: Phenol- β -d-galaktosid.

| pH | Spaltung % nach 1440 Min. | Relative Aktivität |
|-----|---------------------------|--------------------|
| 1.7 | 14.5 | 18.1 |
| 1.8 | 17.4 | 21.8 |
| 2.0 | 36.3 | 45.4 |
| 2.5 | 71.1 | 88.9 |
| 3.0 | 80.0 | 100 |
| 3.8 | 63.7 | 79.6 |
| 4.2 | 58.7 | 73.4 |
| 4.8 | 32.0 | 40.0 |
| 5.4 | 19.5 | 21.9 |

Tabelle 22.

Versuch mit dem Fermentpräparat
Nr. 4. Substrat: p-Nitrophenol-
 β -d-galaktosid.

| pH | Spaltung% nach 1005 Min. | Relative Aktivität |
|-----|--------------------------------|-----------------------|
| 1.7 | 8.8 | 14.4 |
| 2.0 | 24.9 | 40.8 |
| 2.5 | 48.8 | 80.0 |
| 3.0 | 61.1 | 100 |
| 3.5 | 50.4 | 82.5 |
| 4.0 | 32.0 | 52.4 |
| 4.5 | 22.5 | 36.8 |
| 5.7 | 0 | 0 |

Tabelle 23.

Versuch mit dem Fermentpräparat
Nr. 8. Substrat: p-Nitrophenol-
 β -d-galaktosid.

| pH | Spaltung% nach 1470 Min. | Relative Aktivität |
|-----|--------------------------------|-----------------------|
| 3.4 | 0 | 0 |
| 4.2 | 13.6 | 36.6 |
| 4.7 | 30.3 | 81.4 |
| 5.0 | 35.7 | 96.0 |

| | | |
|-----|------|------|
| 5.3 | 37.2 | 100 |
| 5.7 | 34.1 | 91.7 |
| 5.9 | 29.7 | 80.0 |
| 6.4 | 9.7 | 26.1 |

Tabelle 24.

Versuch mit Aprikose-emulsin.
Aus dem Acetonpräparat mit 0.05-
n NH_3 extrahierte Lösung, neutr-
alisiert und dialysiert. Substrat:
p-Nitrophenol- β -d-galaktosid.

| pH | Spaltung% nach 115 Min. | Relative Aktivität |
|-----|-------------------------------|-----------------------|
| 3.5 | 0 | 0 |
| 4.0 | 22.1 | 48.3 |
| 4.2 | 35.7 | 78.0 |
| 4.4 | 42.9 | 93.7 |
| 4.7 | 44.6 | 97.4 |
| 5.0 | 45.8 | 100 |
| 5.5 | 45.2 | 98.7 |
| 5.8 | 43.5 | 95.0 |
| 6.2 | 33.8 | 73.8 |
| 6.6 | 18.3 | 40.0 |
| 7.0 | 10.6 | 23.1 |

V. Affinität der β -Galaktosidasen verschiedener Herkunft zu einigen β -d-Galaktosiden mit verschiedenen Aglykonen.

Wie in der ersten Arbeit¹⁵⁾ dieser Untersuchungsreihe und im ersten Kapitel dieser mitteilungen wiederholt erwähnt, schwankt das Aktivitätsverhältnis der β -Galaktosidasepräparate gegenüber β -Galaktosiden mit verschiedenen Aglykonen mehr oder weniger nach Herkunft der Fermentpräparate. Solche Tatsache kann man auch einfach mit der Annahme erklären, dass jedes Fermentpräparat mehrere β -Galaktosidasen von verschiedenem

Aktivitätsverhältnis in wechselndene Mengenverhältnis enthält. Tatsächlich findet man diesen Sachverhalt an den β -Galaktosidasen tierischer Herkunft⁶⁾ (Table 1 im Kapitel IV) sowie auch an den β -Glucosidasen einigen pflanzlichen Fermentpräparaten (Table 2 im Kapitel III). Bei solchen Fällen kann das Fermentgemisch durch geeignetes Fraktionierungsverfahren zu einheitlichem Enzym getrennt werden. Aber bei den meisten anderen Fällen kann die β -Galaktosidase jeder bestimmter Herkunft als einheitlich aufgefasst werden, und zwar deshalb, weil das Aktivitätsverhältnis durch Fraktionierung der Fermentpräparate fast unverändert bleibt. Demnach sollte die Mannigfaltigkeit im Aktivitätsverhältnis, die die Fermentpräparate je nach ihrer Herkunft aufweisen, anders gedeutet werden, als dass jedes Präparat mehr als zwei Galaktosidasen mit eigenem, charakteristischem Aktivitätsverhältnis in wechselndem Mengenverhältnis enthält.

Schon früher haben R. Willstätter und R. Kuhn²⁰⁾ als Folge der Untersuchungen über Saccharase, Maltase und β -Glucosidase eine Theorie zur Erklärung der relativen Spezifität aufgestellt, wonach die Mannigfaltigkeit im Aktivitätsverhältnis jedes Fermentpräparates so zu verstehen ist, dass die Affinität des Enzyms zu Substrat, von Präparat zu Präparat wechselt, trotzdem das Wesen der Fermente, unabhängig von ihrer Herkunft, dasselbe ist. Diesem 'Gedanke' liegt die Beobachtung zugrunde, dass das Aktivitätsverhältnis unter denjenigen Bedingungen der Reaktion, wo die Substratkonzentration genügend gross ist um alles vorhandenes Ferment zu binden, unabhängig von der Herkunft des Präparates konstant bleibt. Das Aktivitätsverhältnis unter diesen Reaktionsbedingungen (Q_{∞}) stellt somit das der Zerfallsgeschwindigkeit der Enzym-Substrat-Verbindung dar. Hierbei soll darauf aufmerksam gemacht werden, dass die Fermentpräparate, die die genannten Autoren angewendet hatten, miteinander sehr nahe verwandt waren. So stammten z. B. alle ihrer Maltasepräparate den Hefearten und alle β -Glucosidasepräparate dem Samenkern von der Gattung, *Prunus*, indem nur die Rassen bzw. die Arten voneinander verschieden waren. Es wäre möglich, dass die Theorie nur bei den nahe verwandten Fermentpräparaten ihre Gültigkeit finden, jedoch erscheint es mir noch weiterer Prüfung zu bedürfen, ob sich die Theorie auch auf Enzympräparate weit verschiedenen Ursprungs ohne weiteres übertragen lassen darf.

Bei den β -Glucosidasepräparaten verschiedener Herkunft haben T. Miwa und Mitarbeiter¹¹⁾ gefunden, dass das verhältnis der Spaltungsgeschwindigkeit sogar bei der maximalen konzentration der Enzym-Substrat-Verbindung keine konstante Zahlen aufweist. Also erscheint die Anwendbarkeit der

Willstätter-Kuhnschen Theorie nur auf β -Glucosidasen sehr nahe verwandter Herkunft beschränkt zu sein.

Bei der vorliegenden Arbeit wurde versucht, klarzulegen, ob das mannigfaltige Aktivitätsverhältnis in der Wirkung von β -Galaktosidasepräparaten verschiedener Herkunft wirklich nur auf die von Präparat zu Präparat wechselnde Affinität beruht, oder ob es mehrere, je nach Herkunft eigene, in ihrer Struktur wechselnde β -Galaktosidasen gibt.

Zu diesem Zwecke wurden die Affinität einiger β -Galaktosidasepräparate zu verschiedenen phenolischen β -Galaktosiden sowie auch das Verhältnis der Wirkung bei der maximalen Konzentration der Enzym-Substrat-Verbindung bestimmt. Die beiden Werten wurden gewöhnlicherweise nach der Methode von Michaelis und Menten¹³⁾ graphisch ermittelt. Dabei ergaben sich bei

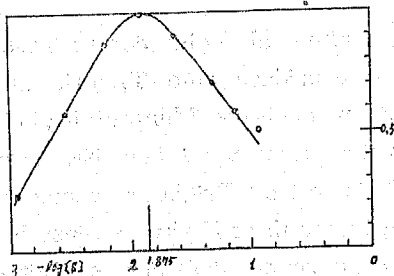
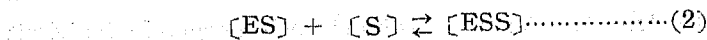
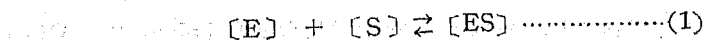


Fig. 1.
Aktivitäts-pS-Kurve der β -Galaktosidase von Takadiastase. Substrat: Phenol- β -d-galaktosid.

einigen Fermentpräparaten merkwürdige Erscheinungen. Nämlich bei der β -Galaktosidasen von Takadiastase, *Aspergillus niger* und einer Enzymfraktion von Schneckenhepatopankreas, die dasselbe Hemmungsverhalten wie Takadiastase aufweist, nimmt die Reaktionsgeschwindigkeit mit Zunahme der Substratkonzentration anfangs zu, dann jedoch, nachdem sie ein Maximum erreicht hat, rasch ab. Also stellt die Aktivitäts-pS-

Kurve dabei einen glockenförmigen Verlauf dar (Fig. 1.)

Derartige Erscheinungen sind schon bei den β -Glucosidasen von Takadiastase, *Aspergillus niger* u. a. beobachtet¹¹⁾ und nach der Anschauung von J. B. S. Haldane³⁾ folgendermassen gedeutet worden. Je ein Molekül von Enzym verbindet sich mit einem Substratmolekül und die gebildete Enzym-Substrat-Verbindung zerfällt dann zu Hydrolyseprodukt. Aber mit der Erhöhung der Substratkonzentration addiert sich noch ein weiterer Substratmolekül an diese Verbindung, wobei sich die gebildete neue Verbindung nicht zu Hydrolyseprodukt führt. Die Folge davon ist die Herabsetzung der Hydrolysegeschwindigkeit. Diese Verhältnisse lassen sich folgendermassen schematisch veranschaulicht:



E.....Enzym; S..... Substrat; ES, ESS... Enzym-Substrat-Verbindung;

P.....Hydrolyseprodukt; [] bedeutet Konzentration.

Daraus habe ich die Dissoziationskonstante der Gleichung 1 und 2, K_{M_1} und K_{M_2} , nach der Methode von Miwa* graphisch ermittelt und in Affinitätskonstante, K_{M_1} und K_{M_2} , (Reziproke der Dissoziationskonstante) umgerechnet.

Folgende Tabellen (1 - 6) enthalten die Aktivitätsverhältnis bei Substratkonzentration von 0,012 Mol ($Q_{0.012}$) und bei der maximalen Konzentration der Enzym-Substrat-Verbindung (Q_{∞}) sowie die Affinitätskonstanten (K_M bzw. K_{M_1} und K_{M_2}).

Bei Aprikose-emulsin wurden, unter Berücksichtigung der Frage, ob die Begleitstoffe auf die Affinität zwischen Enzym und Substrat Einfluss ausüben könnten, zwei Fermentpräparate von verschiedenem Reinheitsgrad herangezogen. Tabelle 1 zeigt die Resultate.

Tabelle 1 (Aprikose-emulsin).

| Wertigkeit des Enzympräparates | 8) fPh.-β-gal. | β-Galaktosid von | | | | | | |
|--------------------------------|----------------|------------------|----------|----------|----------------|-------------------|----------|----------|
| | | Phenol | o-Kresol | p-Kresol | p-Nitro-Phenol | p-Oxy-acetophenon | Guajakol | Vanillin |
| 0.017 | $Q_{0.012}$ | .1 | 12.7 | 0.52 | 47.6 | 4.5 | 2.63 | 31.2 |
| | Q_{∞} | 1 | 22 | 0.31 | 161 | 5.8 | 4.32 | 447 |
| | K_M | 29 | 16 | 50 | 6 | 25 | 12.7 | 8.5 |
| 0.53 | $Q_{0.012}$ | 1 | 15.0 | 0.63 | | | | |
| | Q_{∞} | 1 | 23.7 | 0.49 | | | | |
| | K_M | 29.5 | 16 | 46 | | | | |

Daraus geht klar hervor, dass die Reaktionsgeschwindigkeit bei Substratkonzentration von 0,012 Mol kaum durch die Affinität zwischen Enzym und Substrat, sondern durch Zerfallsgeschwindigkeit der Enzym-Substrat-Verbindung bedingt wird. Dabei erscheint es uns auch bemerkenswert dass die Affinität und Zerfallsgeschwindigkeit der geprüften Substrate etwa in umgekehrtem Verhältnis stehen. Nämlich erweist sich die Affinität zu Vanillin- und p-Nitrophenol-β-galaktosid als weit kleiner als zu p-Kresol- und Phenol-β-galaktosid. Ferner ist zu ersehen dass die Affinität und die Zerfallsgeschwindigkeit ganz unabhängig von dem Reinheitsgrad der angewendeten Fermentpräparate ist, was mit Sicherheit hinweist dass die Begleitstoffe darauf keinen wesentlichen Einfluss ausüben.

Die β-Galaktosidase der Samen von *Cycas revoluta*, deren Versuchsres-

*) Unveröffentlicht.

ultate in Tabelle 2 zusammengestellt sind, ist insofern eigenartig als sie, unter den bisjetzt untersuchten β -Galaktosidasen, in ihrem Aktivitätsverhältnis derjenigen des *Prunus*-emulsins äusserst nahe steht (Tabelle 1 im Kapitel I). Um klarzulegen, worauf solche Gleichartigkeit beruht, wurden die Affinität und die Zerfallsgeschwindigkeit, zum Vergleich mit Aprikose-emulsin, ermittelt.

Tabelle 2 (Enzym von *Cycas revoluta*).

| | β -Galaktosid von | | |
|--------------|-------------------------|----------|----------|
| | Phenol | o-Kresol | p-Kresol |
| $Q_{0.012}$ | 1 | 10.6 | 0.75 |
| Q_{∞} | 1 | 22 | 0.61 |
| KM | 34 | 18 | 46.7 |

Daraus ist ersichtlich, dass sowohl die Affinität zu drei Substraten wie auch das Verhältnis der Zerfallsgeschwindigkeit mit den entsprechenden Werten des Aprikose-emulsins gut übereinstimmen. Dies, mit der weitgehenden Ähnlichkeit im Aktivitätsverhältnis zu den umfangreichen Substratreihen, deutet darauf hin, dass es zwischen den β -Galaktosidasen von *Prunus* und *Cycas* eine wesentliche Gleichartigkeit im Enzymbau besteht.

Wie im vorangehenden Kapitel dieser Mitteilungen angegeben, enthält das Hepatopankreas einer Schnecke, *Eulota peliomphala*, zwei Arten der β -Galaktosidase, die durch geeignetes Verfahren voneinander getrennt werden können. In ihrem Verhalten gegenüber einigen Hemmungskörpern steht die eine mit der β -Galaktosidase des Aprikose-emulsins und die andere mit der der Takadiastase in Übereinstimmung. In Tabelle 3 zeigen sich die Versuchsergebnisse mit der Enzymfraktion, die das Hemmungsverhalten von Emulsin-typ aufweist.

Tabelle 3 (Enzym von Schneckenhepatopankreas, Emulsin-typ).

| | β -Galaktosid von | | | | | | |
|--------------|-------------------------|----------|----------|------------------|------------------|----------|------------|
| | Phenol * | o-Kresol | p-Kresol | p-Nitro-phenol * | P-oxyacetophenon | Guajakol | Vanillin * |
| $Q_{0.012}$ | 1 | 0.89 | 0.82 | 5.97 | 2.30 | 0.75 | 3.32 |
| Q_{∞} | 1 | 0.90 | 0.63 | 30 | 2.80 | 0.65 | 27 |
| KM_1 | 132 | 112 | 422 | 9.6 | 38 | 282 | 8.7 |
| KM_2 | — | 11 | 1.3 | — | 24 | 8.9 | — |

* Aktivitäts-pS-Kurve ist normal, mithin fehlt KM_2 .

Diese Resultate, verglichen mit denjenigen der Tabelle 1, lassen uns

erkennen dass zwischen dieser Fermentfraktion und Aprikose-emulsin ein deutlicher Unterschied in der Affinität zu Phenol-, o-Kresol-, p-Kresol- und Guajakol- β -galaktosid besteht, während diejenige zu p-Nitrophenol-, p-Oxyacetophenon- und Vanillin- β -galaktosid in beiden Fermentpräparaten etwa gleich gross ist. Immerhin kann man jedoch derart nahe Verwandtschaft, wie sie zwischen *Prunus*- und *Cycas*-enzym vorhanden ist, hierbei nicht wahrnehmen. Auch bezüglich des Verhältnisses der Zerfallsgeschwindigkeit besteht dazwischen eine nicht geringe Differenz, wenigstens in bezug auf o-Kresol- und Guajakol- β -galaktosid. Alle dieser Resultaten bestätigen wiederholt die Ansicht des vorangehenden Kapitels, dass die β -Galaktosidase der Schnecke mit dem Hemmungsverhalten von Emulsin-typ von der des Aprikose-emulsins verschieden sei.

Die in Takadiastase enthaltene β -Galaktosidase ist einheitlich, die sich von Aprikose-emulsin sowohl in bezug auf Aktivitätsverhältnis wie auch Verhalten gegen Hemmungskörper scharf unterscheiden lässt (Kapitel I und II). Tabelle 4 zeigt die Versuchsergebnisse mit diesem Fermentpräparat.

Tabelle 4 (Takadiastase).

| | β -Galaktosid von | | | | | | |
|--------------|-------------------------|----------|----------|---------------|------------------|----------|----------|
| | Phenol | o-Kresol | p-Kresol | p-Nitrophenol | p-Oxyacetophenon | Guajakol | Vanillin |
| $Q_{0.012}$ | 1 | 0.82 | 0.90 | 0.92 | 1.0 | 0.53 | 0.99 |
| Q_{∞} | 1 | 0.81 | 0.53 | 0.55 | 2.8 | 0.28 | 0.99 |
| KM_1 | 75 | 76 | 159 | 235 | 38 | 185 | 60 |
| KM_2 | 75 | 68 | 20 | 30 | 376 | 8.6 | 53 |

Daraus ersicht man dass die Affinitätskonstanten sowie das Verhältnis der Zerfallsgeschwindigkeit von den entsprechenden Werten sowohl des Aprikose-emulsins wie der meisten anderen β -Galaktosidasepräparate verschieden sind. Fernerhin möchte ich daraus noch einen merkwürdigen Tatbestand entnehmen, dass die Schwankung des Aktivitätsverhältnisses bei maximaler Substratkonzentration (Q_{∞}) etwas grösser ist als bei Substratkonzentration von 0.012 Mol ($Q_{0.012}$). Daraus erhellt sich dass die Gleichmässigkeit in dem Aktivitätsverhältnis von Taka- β -galaktosidase nur eine scheinbare ist und dass es durch Kombination der Zerfallsgeschwindigkeit und der Affinität zustande kommt.

Wie oben erwähnt, enthält das Schneckenhepatopankreas zwei Arten der β -Galaktosidase, von denen die eine dasselbe Verhalten gegenüber Hemmungskörpern wie die β -Galaktosidase der Takadiastase. Versuche mit diesem Ferment ergaben folgende Resultate.

Tabelle 5 (Enzym von Schneckenhepatopankreas, Taka-typ).

| | β -Galaktosid von | | | | | | |
|--------------|-------------------------|----------|----------|---------------|------------------|----------|----------|
| | Phenol | o-Kresol | p-Kresol | p-Nitrophenol | p-Oxyacetophenon | Guajakol | Vanillin |
| $Q_{0.012}$ | 1 | 1.05 | 1.25 | 1.22 | 0.95 | 0.085 | 0.87 |
| Q_{∞} | 1 | 1.0 | 2.2 | 6.6 | 0.33 | 0.32 | 0.67 |
| KM_1 | 23 | 25 | 11 | 3.6 | 68.4 | 7.5 | 25 |
| KM_2 | 108 | 115 | 233 | 813 | 6.8 | 750 | 25 |

Vergleicht man diese Ergebnisse mit denen der Takadiastase, so erkennt man sofort einen nicht unbeträchtlichen Unterschied. Die Unstimmigkeit, die dazwischen in bezug auf Aktivitätsverhältnis bei Substratkonzentration von 0.012 Mol vorhanden ist, tritt bezüglich Q_{∞} -Werte noch deutlicher zutage, was gegen die Theorie von Willstätter und Kuhn spricht.

Die β -Galaktosidase von *Aspergillus niger* steht insofern der der Takadiastase nahe, als sie gleiches Hemmungsverhalten und ähnliches Aktivitätsverhältnis gegenüber mehreren Substraten aufweist (Kapitel I und II). Es erscheint uns daher auch wünschenswert, sicher zustellen, ob diese scheinbare Gleichartigkeit auf die wesentliche Struktur der beiden Fermente beruht oder nicht. Um einer Erklärung dieser Frage näher zu kommen, wurde die Bestimmung der Affinitätskonstante und des Aktivitätsverhältnisses der Zerfallsgeschwindigkeit ausgeführt.

Tabelle 6 (Enzym von *Aspergillus niger*).

| | β -Galaktosid von | | |
|--------------|-------------------------|----------|----------|
| | Phenol | o-Kresol | p-Kresol |
| $Q_{0.012}$ | 1 | 1.18 | 0.88 |
| Q_{∞} | 1 | 0.87 | 0.70 |
| KM_1 | 22 | 168 | 452 |
| KM_2 | 219 | 5.3 | 8.0 |

Wie daraus hervorgeht, ist das Verhältnis der Zerfallsgeschwindigkeit im grossen und ganzen dasselbe wie das der Takadiastase, während es bezüglich der Affinitätskonstante eine unverkennbare Diskrepanz besteht. Daher ist man ohne weiteres nicht imstande, die β -Galaktosidasen beider *Aspergillus*-arten als identisch zu betrachten, solange ein sicherer Beweis nicht erbracht werden könnte, dass die Affinität durch die von Enzymmolekül unabhängigen Begleitstoffe beeinflusst wird.

Die wichtigen Punkte der in Tabelle 1-6 angegebenen Resultate lassen

sich folgendermassen zusammenfassen.

1). Das Verhältnis der Zerfallsgeschwindigkeit von Enzym-Substrat-Verbindung, d. h. das Wirkungsverhältnis bei der maximalen Substratkonzentration, Q_{∞} , schwankt je nach der Fermentprovenienz ganz unregelmässig, was mit aller Wahrscheinlichkeit darauf hindeutet, dass die unitarische Theorie von Willstätter und Kuhn, soweit es sich um β -Galaktosidase handelt, nicht aufrechtzuhalten ist.

2). Zwischen dem Hemmungstyp der β -Galaktosidase und den Werten von Q_{∞} und KM oder KM_1 und KM_2 , scheint keine korrelative Beziehung zu bestehen.

3). Die Spaltungsgeschwindigkeit verschiedener Substrate bei Substratkonzentration von 0.012 Mol werden zumeist durch die Zerfallsgeschwindigkeit der Enzym-Substrat-Verbindung, nicht aber durch die Affinität zwischen Enzym und Substrat bedingt. In Allgemeinen bemerkt man sogar eine Tendenz, dass die Affinität bei denjenigen Substraten kleiner ist, die bei Substratkonzentration von 0.012 Mol mit grösserer Geschwindigkeit gespalten werden.

4). Alle dieser Befunde lassen uns genötigt anzunehmen, dass die β -Galaktosidasen je nach Herkunft der Fermente in ihrer Gesamtstruktur verschieden seien, nämlich sind diejenigen Anteile des Enzymmolekuls voneinander verschieden, die für die Affinität zwischen Enzym und Substrat sowie für die Zerfallsgeschwindigkeit der Enzym-Substrat-Verbindung verantwortlich zu machen sind, während die an die Spaltung der β -Galaktosidbindung unmittelbar beteiligten Gruppen dieselben sind.

Versuche.

Die Versuchsmethoden folgten den Angaben der früheren Mitteilungen.
15)11)

Protokolle.

V_{∞} : abgespaltene Galaktosemenge (mg) pro Minute, pro Enzymeinheit bei maximaler Enzym-Substrat-Konzentration; es ist graphisch erhältlich.
 Km bzw. Km_1 , Km_2 : Dissoziationskonstanten der Aktivitäts-pS-Kurven KM , bzw. KM_1 , KM_2 : Affinitätskonstanten des Enzyms, d. i. Reziproke der Dissoziationskonstanten. $10^3 \cdot k$: Reaktionskonstante erster Ordnung, bei Substratkonzentration von 0.012 Mol.

A: Versuche mit dem Aprikose-emulsin (1). Wertigkeit: $f_{Ph. \beta gal.} = 0.017$.

Tabelle 7.

Substrat: Phenol- β -d-galaktosid. Relative Enzymmenge = 1.

| Substrat- konzentr- ation Mol | $-\log[S]$ | Spaltung(Galaktose- mg/ccm Probe)nach | |
|--|------------|--|----------|
| | | 120 Min. | 260 Min. |
| 0.120 | 0.9208 | 0.565 | 1.116 |
| 0.096 | 1.0177 | 0.501 | 0.983 |
| 0.072 | 1.1427 | 0.469 | 0.882 |
| 0.048 | 1.3188 | 0.415 | 0.772 |
| 0.024 | 1.6198 | 0.281 | 0.548 |
| 0.012 | 1.9208 | 0.188 | 0.396 |
| 0.006 | 2.2218 | 0.154 | 0.288 |
| 0.0012 | 2.9208 | 0.086 | 0.140 |

$10^3 k = 0.329$, $Q_{0.012} = 1$, $KM = 0.0347$,
 $KM = 29$, $V_{\infty} = 0.0236 \text{ mg}$, $Q_{\infty} = 1$.

Tabelle 8.

Substrat: o-Kresol- β -d-galaktosid.
 Relative Enzymmenge = 1/9.

| Substrat- konzentr- ation Mol | $-\log[S]$ | Spaltung(Galaktose- mg/ccm Probe)nach | |
|--|------------|--|----------|
| | | 60 Min. | 180 Min. |
| 0.219 | 0.65965 | 0.670 | 1.602 |
| 0.101 | 0.9957 | 0.561 | 1.332 |
| 0.048 | 1.3188 | 0.386 | 0.906 |
| 0.0275 | 1.5600 | 0.304 | 0.703 |
| 0.012 | 1.9208 | 0.123 | 0.272 |
| 0.006 | 2.2218 | 0.069 | 0.167 |
| 0.003 | 2.5229 | 0.035 | 0.088 |

$10^3 k = 4.17$, $Q_{0.012} = 12.7$, $Km = 0.0631$,
 $KM = 16$, $V_{\infty} = 0.52 \text{ mg}$, $Q_{\infty} = 22.0$.

Tabelle 9.

Substrat: p-Kresol- β -d-galaktosid.
 Relative Enzymmenge = 1.

| Substrat- konzentr- ation Mol | $-\log[S]$ | Spaltung (Galaktose- mg/ccm Probe) nach | | |
|--|------------|--|-------------|--------------|
| | | 157 Min. | 458 Min. | 1000 Min. |
| 0.1506 | 0.82391 | 0.310 | — | — |
| 0.120 | 0.9208 | 0.364 | 0.902 | 1.600 |

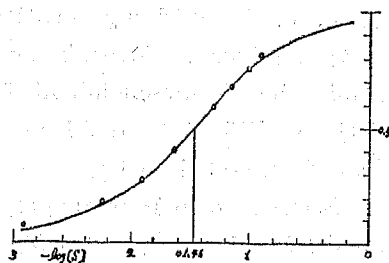


Fig. 2.

Aktivitäts-pS-Kurve (Tabelle 7).

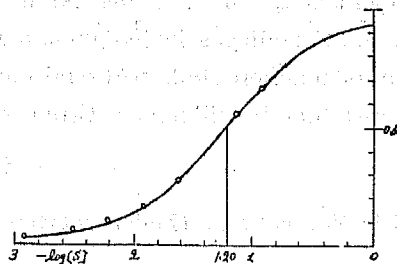


Fig. 3.

Aktivitäts-pS-kurve (Tabelle 8).

| | | | | |
|--------|--------|-------|-------|-------|
| 0.096 | 1.0177 | 0.339 | 0.854 | 1.550 |
| 0.048 | 1.3188 | 0.250 | 0.695 | 1.300 |
| 0.024 | 1.6198 | 0.220 | 0.580 | 1.000 |
| 0.012 | 1.9208 | 0.194 | 0.480 | 0.705 |
| 0.006 | 2.2218 | 0.170 | 0.362 | 0.452 |
| 0.003 | 2.5229 | 0.138 | 0.260 | 0.290 |
| 0.0012 | 2.9208 | 0.108 | 0.168 | 0.185 |

$10^3 k = 0.172$, $Q_{0.012} = 0.52$, $K_m = 0.020$,
 $KM = 50$, $V_{\infty} = 0.0072\text{mg}$, $Q_{\infty} = 0.31$

Tabelle 10.

Substrat: p-Nitrophenol- β -d-galaktosid.
 Relative Enzymmenge = 1/20.

| Substratkonzentration Mol | -log[S] | Spaltung (Galaktose-mg/ccm Probe) nach | | |
|---------------------------|---------|--|----------|----------|
| | | 30 Min. | 120 Min. | 270 Min. |
| 0.120 | 0.9208 | 0.570 | 1.256 | 1.684 |
| 0.096 | 1.0177 | 0.520 | 1.142 | 1.580 |
| 0.072 | 1.14267 | 0.400 | 0.926 | 1.410 |
| 0.048 | 1.3188 | 0.284 | 0.772 | 1.102 |
| 0.024 | 1.6198 | 0.166 | 0.514 | 0.778 |
| 0.012 | 1.9208 | 0.115 | 0.263 | 0.389 |
| 0.006 | 2.2218 | 0.065 | 0.191 | 0.298 |
| 0.003 | 2.5229 | 0.035 | 0.105 | 0.167 |
| 0.0012 | 2.9208 | 0.015 | 0.050 | 0.083 |

$10^3 k = 15.66$, $Q_{0.012} = 47.6$, $K_m = 0.170$,
 $KM = 6.0$, $V_{\infty} = 3.792\text{mg}$, $Q_{\infty} = 161$.

Tabelle 11.

Substrat: p-Oxyacetophenon- β -d-galaktosid.
 Relative Enzymmenge = 1/3.

| Substratkonzentration Mol | -log[S] | Spaltung (Galaktose-mg/ccm Probe) nach | | |
|---------------------------|---------|--|----------|----------|
| | | 60 Min. | 120 Min. | 240 Min. |
| 0.07 * | 1.14267 | 0.435 | 0.726 | 1.074 |

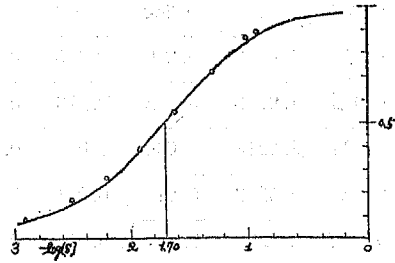


Fig. 4.

Aktivitäts-pS-Kurve (Tabelle 9).

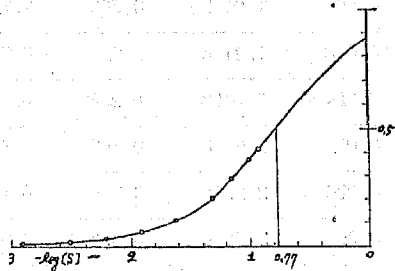


Fig. 5.

Aktivitäts-pS-Kurve (Tabelle 10).

| | | | | |
|--------|--------|-------|-------|-------|
| 0.048 | 1.3188 | 0.360 | 0.618 | 0.983 |
| 0.024 | 1.6198 | 0.250 | 0.435 | 0.673 |
| 0.012 | 1.9208 | 0.142 | 0.270 | 0.406 |
| 0.006 | 2.2218 | 0.040 | 0.080 | 0.170 |
| 0.003 | 2.5229 | 0.015 | 0.031 | 0.065 |
| 0.0012 | 2.9208 | 0.007 | 0.013 | 0.031 |

10⁸. k=1.482, Q_{0.012}=4.5, Km=0.0399,
KM=25, V_∞=0.1344mg, Q_∞=5.8

*Als Suspension.

Tabelle 12.

Substrat: Guajakol-β-d-galaktosid.
Relative Enzymmenge=1/3.

| Substrat- konzentration Mol | -log[S] | Spaltung (Galaktose- mg/ccm Probe) nach | |
|-----------------------------------|---------|--|----------|
| | | 120 Min. | 250 Min. |
| 0.120 | 0.9208 | 0.647 | 1.262 |
| 0.096 | 1.0177 | 0.593 | 1.123 |
| 0.048 | 1.3188 | 0.420 | 0.750 |
| 0.024 | 1.6198 | 0.250 | 0.465 |
| 0.012 | 1.9208 | 0.167 | 0.305 |
| 0.006 | 2.2218 | 0.109 | 0.176 |
| 0.003 | 2.5229 | 0.062 | 0.079 |
| 0.0012 | 2.9208 | 0.022 | 0.039 |

10⁸. k=0.864, Q_{0.012}=2.63, Km=0.0708,
KM=12.7, V_∞=0.1043mg, Q_∞=4.32.

Tabelle 13.

Substrat: Vanillin-β-d-galaktosid.
Relative Enzymmenge=1/45.

| Substrat- konzentration Mol | -log[S] | Spaltung (Galaktose- mg/ccm Probe) nach | | |
|-----------------------------------|---------|--|------------|-------------|
| | | 20 Min. | 60 Min. | 180 Min. |
| 0.100 * | 1.000 | 0.550 | 1.142 | 1.812 |
| 0.072 * | 1.14267 | 0.460 | 0.954 | 1.552 |
| 0.048 | 1.3188 | 0.315 | 0.660 | 1.142 |
| 0.024 | 1.6198 | 0.125 | 0.270 | 0.461 |

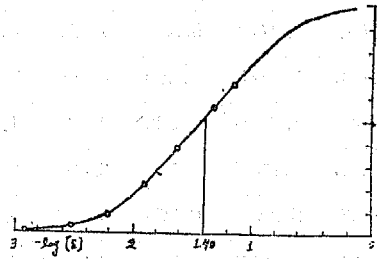


Fig. 6.

Aktivitäts-pS-Kurve (Tabelle 11).

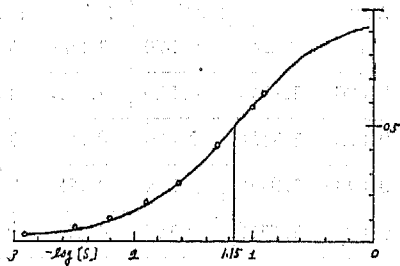


Fig. 7.

Aktivitäts-pS-Kurve (Tabelle 12).

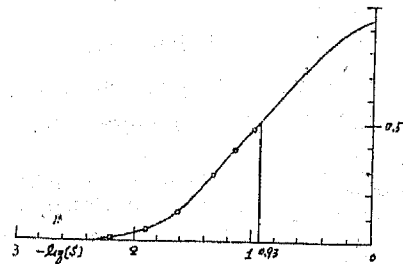


Fig. 8.

Aktivitäts-pS-Kurve (Tabelle 13).

| | | | | |
|--------|--------|-------|-------|-------|
| 0.012 | 1.9208 | 0.050 | 0.067 | 0.117 |
| 0.006 | 2.2218 | 0.016 | 0.031 | 0.064 |
| 0.003 | 2.5229 | 0.008 | 0.010 | 0.015 |
| 0.0012 | 2.9208 | 0 | 0 | 0 |

10³. k=10.26, Q_{0.012}=31.2, Km=0.118,
Km=8.5, V_∞=10.539mg Q_∞=447.

* Als Suspension.

B: Versuche mit dem Aprikose-emulsin (2). Wertigkeit: f_{Ph.-β-gal}=0.53.

Tabelle 14.

Substrat: Phenol-β-d-galaktosid.
Relative Enzymmenge=1.

| Substratkonzentration Mol | -log[S] | Spaltung (Galaktose-mg/ccm Probe) nach 146 Min. |
|---------------------------|---------|---|
| 0.108 | 0.9657 | 0.520 |
| 0.090 | 1.0458 | 0.500 |
| 0.072 | 1.1427 | 0.450 |
| 0.036 | 1.4437 | 0.330 |
| 0.012 | 1.9208 | 0.190 |
| 0.009 | 2.046 | 0.175 |
| 0.003 | 2.523 | 0.125 |
| 0.001 | 3.000 | 0.104 |

10³. k=0.281, Q_{0.012}=1 Km=0.0339,
KM=29.5, V_∞=0.01828m, g Q_∞=1.

Tabelle 15.

Substrat: o-Kresol-β-d-galaktosid.
Relative Enzymmenge=1/10.

| Substratkonzentration Mol | -log[S] | Spaltung (Galaktose-mg/ccm Probe) nach 247 Min |
|---------------------------|---------|--|
| 0.120 | 0.9208 | 1.885 |
| 0.072 | 1.1427 | 1.575 |
| 0.024 | 1.6198 | 0.709 |
| 0.012 | 1.9208 | 0.463 |
| 0.006 | 2.2218 | 0.266 |
| 0.003 | 2.5229 | 0.151 |

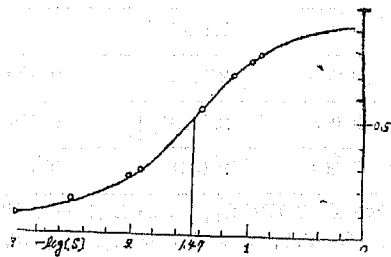


Fig. 9.

Aktivitäts-pS-Kurve (Tabelle 14).

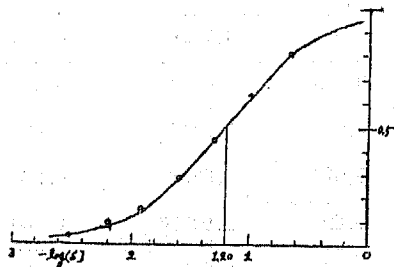


Fig 10.

Aktivitäts-pS-Kurve (Tabelle 15).

| | | |
|--------|--------|-------|
| 0.0012 | 2.9208 | 0.050 |
|--------|--------|-------|

$10^3 \cdot k = 4.21$, $Q_{0.012} = 15.0$, $K_m = 0.0631$,
 $K_M = 16$, $V_{\infty} = 0.434 \text{ mg}$, $Q_{\infty} = 23.7$.

Tabelle 16

Substrat: p-Kresol- β -d-galaktosid.
 Relative Enzymmenge = 1

| Substratkonzentration Mol | $-\log[S]$ | Spaltung (Galaktose-mg/ccm Probe) nach 245 Min. |
|---------------------------|------------|---|
| 0.144 | 0.842 | 0.446 |
| 0.120 | 0.922 | 0.435 |
| 0.096 | 1.0177 | 0.425 |
| 0.048 | 1.3188 | 0.370 |
| 0.024 | 1.6198 | 0.285 |
| 0.012 | 1.9208 | 0.207 |
| 0.006 | 2.2218 | 0.200 |
| 0.003 | 2.5229 | 0.165 |
| 0.001 | 3.000 | 0.110 |

$10^3 \cdot k = 0.176$, $Q_{0.012} = 0.63$, $K_m = 0.0219$,
 $K_M = 45.7$, $V_{\infty} = 0.0090 \text{ mg}$, $Q_{\infty} = 0.49$.

C: Versuche mit dem Fermentpräparate aus *Cycas revoluta*.

Tabelle 17.

Substrat: Phenol- β -d-galaktosid.
 Relative Enzymmenge = 1.

| Substratkonzentration Mol | $-\log[S]$ | Spaltung (Galaktose-mg/ccm Probe) nach 895 Min. |
|---------------------------|------------|---|
| 0.108 | 0.96658 | 0.900 |
| 0.072 | 1.14267 | 0.812 |
| 0.036 | 1.4437 | 0.640 |
| 0.018 | 1.7447 | 0.430 |
| 0.012 | 1.9208 | 0.364 |
| 0.09 | 2.04576 | 0.340 |
| 0.06 | 2.22185 | 0.280 |
| 0.03 | 2.52287 | 0.203 |

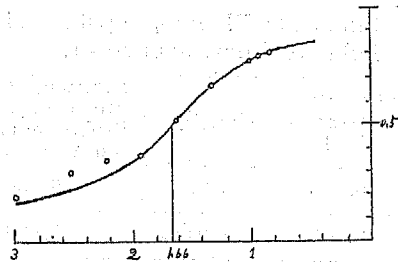


Fig. 11.

Aktivitäts-pS-Kurve (Tabelle 16).

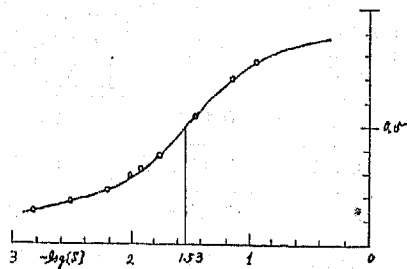


Fig. 12.

Aktivitäts-pS-Kurve (Tabelle 17).

| | | |
|------|---------|-------|
| 0.15 | 2.82391 | 0.174 |
|------|---------|-------|

$10^3 k = 0.0882$, $Q_{0.012} = 1$, $K_m = 0.0285$,
 $KM = 33.9$, $V_{\infty} = 0.0052\text{mg}$, $Q_{\infty} = 1$.

Tabelle 81.

Substrat: o-Kresol- β -d-galaktosid.
 Relative Enzymmenge = 1.

| Substratkonzentration Mol | $-\log[S]$ | Spaltung (Galaktose-mg/ccm Probe) nach 80 Min. |
|---------------------------|------------|--|
| 0.120 | 0.9208 | 1.600 |
| 0.072 | 1.14267 | 1.326 |
| 0.048 | 1.3188 | 1.050 |
| 0.024 | 1.6198 | 0.684 |
| 0.012 | 1.9208 | 0.347 |
| 0.006 | 2.2218 | 0.194 |
| 0.003 | 2.5229 | 0.115 |
| 0.0012 | 2.9208 | 0.052 |

$10^3 k = 0.950$, $Q_{0.012} = 10.6$, $K_m = 0.055$,
 $KM = 18$, $V_{\infty} = 0.1152\text{mg}$, $Q_{\infty} = 22$.

Tabelle 19.

Substrat: p-Kresol- β -d-galaktosid.
 Relative Enzymmenge = 1.

| Substratkonzentration Mol. | $-\log[S]$ | Spaltung (Galaktose-mg/ccm Probe) nach 1450 Min. |
|----------------------------|------------|--|
| 0.144 | 0.842 | 0.940 |
| 0.096 | 0.922 | 0.920 |
| 0.048 | 1.3188 | 0.777 |
| 0.024 | 1.6198 | 0.604 |
| 0.012 | 1.9208 | 0.434 |
| 0.006 | 2.2218 | 0.345 |
| 0.003 | 2.5229 | 0.230 |
| 0.0015 | 2.8239 | 0.173 |

$10^3 k = 0.0672$, $Q_{0.012} = 0.75$, $K_m = 0.0214$
 $KM = 46.7$, $V_{\infty} = 0.003172\text{mg}$, $Q_{\infty} = 0.61$.

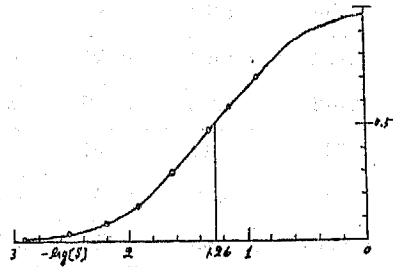


Fig. 13.

Aktivitäts-pS-Kurve (Tabelle 18).

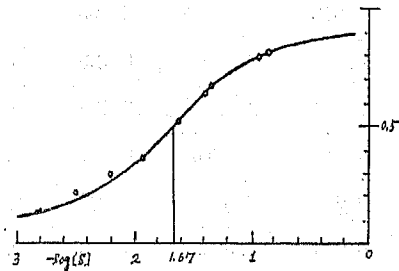


Fig. 14.

Aktivitäts-pS-Kurve (Tabelle 19).

D: Versuche mit dem Fermentpräparat von Emulsin-typ aus Schnecken-

hepatopankreas.

Tabelle 20.

Substrat: Phenol- β -d-galaktosid.

Relative Enzymmenge=1.

| Substrat- konzentr- ation Mol | -log[S] | Spaltung (Galaktose- mg/ccm Probe) nach | |
|-------------------------------------|---------|---|-----------|
| | | 1050 Min. | 2585 Min. |
| 0.120 | 0.9208 | 0.590 | 1.368 |
| 0.072 | 1.14267 | 0.576 | 1.319 |
| 0.048 | 1.3188 | 0.544 | 1.255 |
| 0.024 | 1.6198 | 0.480 | 1.050 |
| 0.012 | 1.9208 | 0.391 | 0.800 |
| 0.006 | 2.2218 | 0.285 | 0.561 |
| 0.003 | 2.5229 | 0.178 | 0.336 |
| 0.0012 | 2.9208 | 0.098 | 0.171 |

10³. k=0.0828; Q_{0.012}=1, K_m=0.00795,
K_M=132, V_∞=0.00248mg, Q_∞=1.

Tabelle 21.

Substrat: o-Kresol- β -d-galaktosid.

Relative Enzymmenge=1/3.

| Substrat- konzentr- ation Mol | -log[S] | Spaltung (Gala- ktose-mg/ccm Probe) nach | |
|-------------------------------------|---------|--|-----------|
| | | 960 Min. | 2875 Min. |
| 0.120 | 0.9208 | 0.095 | 0.350 |
| 0.072 | 1.14267 | 0.105 | 0.400 |
| 0.048 | 1.3188 | 0.123 | 0.450 |
| 0.024 | 1.6198 | 0.130 | 0.468 |
| 0.012 | 1.9208 | 0.115 | 0.375 |
| 0.006 | 2.2218 | 0.090 | 0.280 |
| 0.003 | 2.5229 | 0.062 | 0.180 |
| 0.0012 | 2.9208 | 0.038 | 0.096 |

10³. k=0.0735, Q_{0.012}=0.89, K_{m1}=0.008913
K_{m2}=0.08913 K_{M1}=112.2, K_{M2}=11.2,
V_∞=0.00222mg, Q_∞=0.90

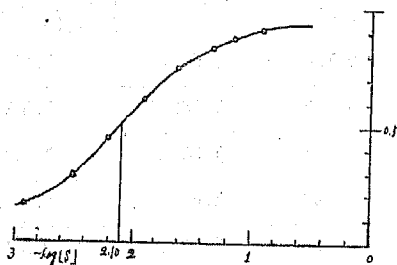


Fig. 15.

Aktivitäts-pS-Kurve (Tabelle 20).

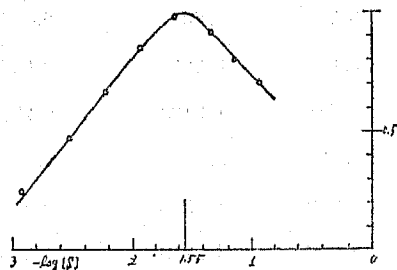


Fig. 16.

Aktivitäts-pS-Kurve (Tabelle 21).

Tabelle 22.

Substrat: p-Kresol-β-d-galaktosid.
Relative Enzymmenge=1/2.

| Substrat-konzentration Mol | -log[S] | Spaltung (Galaktose-mg/ccm Probe) nach | |
|----------------------------|---------|--|-----------|
| | | 1150 Min. | 2720 Min. |
| 0.120 | 0.9208 | 0.191 | 0.481 |
| 0.072 | 1.1427 | 0.204 | 0.501 |
| 0.048 | 1.3188 | 0.207 | 0.522 |
| 0.024 | 1.6198 | 0.203 | 0.487 |
| 0.012 | 1.9208 | 0.188 | 0.417 |
| 0.006 | 2.2218 | 0.165 | 0.338 |
| 0.003 | 2.5229 | 0.118 | 0.231 |
| 0.0012 | 2.9208 | 0.076 | 0.128 |

10³.k=0.0676 Q_{0.012}=0.82, Km₁=0.002372, Km₂=0.7499, KM₁=421.6, KM₂=1.33, V_∞=0.001552mg, Q_∞=0.63.

Tabelle 23.

Substrat: p-Nitrophenol-β-d-galaktosid.
Relative Enzymmenge=1/10.

| Substrat-konzentration Mol | -log[S] | Spaltung (Galaktose-mg/ccm Probe) nach | | |
|----------------------------|---------|--|----------|-----------|
| | | 500 Min. | 970 Min. | 2520 Min. |
| 0.120 | 0.9208 | 0.510 | 0.784 | 1.102 |
| 0.072 | 1.1427 | 0.380 | 0.656 | 1.026 |
| 0.048 | 1.3188 | 0.285 | 0.500 | 0.842 |
| 0.024 | 1.6198 | 0.170 | 0.330 | 0.526 |
| 0.012 | 1.9208 | 0.120 | 0.220 | 0.376 |
| 0.006 | 2.2218 | 0.090 | 0.164 | 0.271 |
| 0.003 | 2.5229 | 0.075 | 0.131 | 0.200 |
| 0.0012 | 2.9208 | 0.05 | 0.073 | 0.120 |

10³.k=0.494, Q_{0.012}=5.97, Km=0.1047, KM=9.6, V_∞=0.0752, Q_∞=30.3.

Tabelle 24.

Substrat: p-Oxyacetophenon-β-d-galaktosid.
Relative Enzymmenge=1/5.

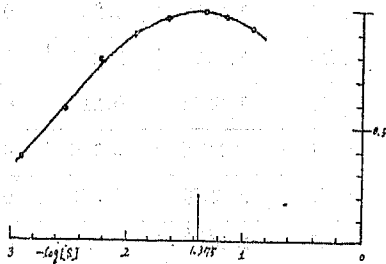


Fig. 17.

Aktivitäts-pS-Kurve (Tabelle 22).

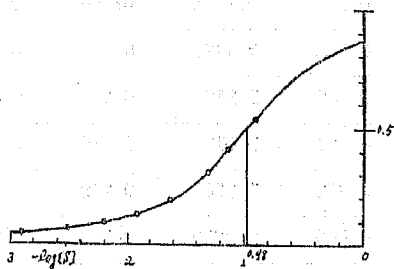


Fig. 18.

Aktivitäts-pS-Kurve (Tabelle 23).

| Substrat- konzentration Mol | -log[S] | Spaltung (Gala- ktose-mg/ccm Probe) nach | |
|-----------------------------------|---------|--|-----------|
| | | 1165 Min. | 2570 Min. |
| 0.100 * | 1.0000 | 0.210 | 0.344 |
| 0.072 * | 1.1427 | 0.217 | 0.350 |
| 0.048 | 1.3188 | 0.223 | 0.376 |
| 0.024 | 1.6198 | 0.220 | 0.406 |
| 0.012 | 1.9208 | 0.210 | 0.406 |
| 0.006 | 2.2218 | 0.119 | 0.179 |
| 0.003 | 2.5229 | 0.061 | 0.094 |
| 0.0012 | 2.9208 | 0.028 | 0.033 |

$10^3 \cdot k = 0.1900$, $Q_{0.012} = 2.30$, $K_{M1} = 0.02$
 661 , $K_{M2} = 0.04217$, $K_{M1} = 37.6$, $K_{M2} =$
 23.7 , $V_{\infty} = 0.00692\text{mg}$, $Q_{\infty} = 2.8$.

* Als Suspension.

Tabelle 25.

Substrat: Guajakol- β -d-galaktosid.
 Relative Enzymmenge = 1/1.5.

| Substrat- konzentration Mol | -log[S] | Spaltung (Gala- ktose-mg/ccm Probe) nach | |
|-----------------------------------|---------|--|-----------|
| | | 1695 Min. | 2715 Min. |
| 0.120 | 0.9208 | 0.160 | 0.320 |
| 0.072 | 1.1427 | 0.186 | 0.420 |
| 0.048 | 1.3188 | 0.203 | 0.485 |
| 0.024 | 1.6198 | 0.216 | 0.523 |
| 0.012 | 1.9208 | 0.213 | 0.490 |
| 0.006 | 2.2218 | 0.187 | 0.385 |
| 0.003 | 2.5229 | 0.141 | 0.255 |
| 0.0012 | 2.9208 | 0.077 | 0.134 |

$10^3 \cdot k = 0.0623$, $Q_{0.012} = 0.75$, $K_{M1} = 0.00$
 3548 , $K_{M2} = 0.1122$, $K_{M1} = 282$, $K_{M2} =$
 8.9 , $V_{\infty} = 0.0016\text{mg}$, $Q_{\infty} = 0.65$

Tabelle 26.

Substrat: Vanillin- β -d-galaktosid.
 Relative Enzymmenge = 1/10.

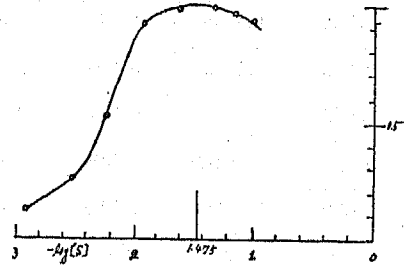


Fig. 19.

Aktivitäts-pS-Kurve (Tabelle 42).

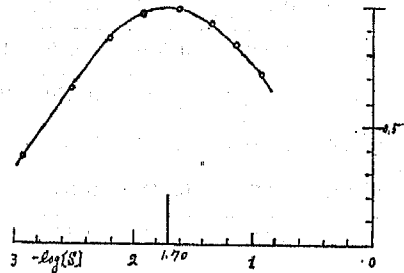


Fig. 20.

Aktivitäts-pS-Kurve (Tabelle 25).

| Substrat- konzentration Mol | -log[S] | Spaltung (Gala- ktose-mg/ccm Probe nach | |
|-----------------------------------|---------|---|-----------|
| | | 1075 Min. | 2595 Min. |
| 0.100 * | 1.0000 | 0.822 | 1.980 |
| 0.072 * | 1.1427 | 0.674 | 1.504 |
| 0.048 | 1.3188 | 0.455 | 0.922 |
| 0.024 | 1.6198 | 0.282 | 0.500 |
| 0.012 | 1.9208 | 0.140 | 0.320 |
| 0.006 | 2.2218 | 0.089 | 0.211 |
| 0.003 | 2.5229 | 0.046 | 0.080 |
| 0.0012 | 2.9208 | 0.016 | 0.030 |

$10^3 \cdot k = 0.275$, $Q_{0.012} = 3.32$, $K_m = 0.115$,
 $K_M = 8.7$, $V_{\infty} = 0.672 \text{ mg}$, $Q_{\infty} = 27.1$

* Als Suspension.

E: Versuche mit Takadiastase.

Tabelle 27.*

Substrat: Phenol- β -d-galaktosid.

Relative Enzymmenge = 1/4.

| Substratkonzentration Mol | -log[S] | Spaltung (Gala- ktose-mg/ccm Probe) nach 378 Min. |
|------------------------------|---------|--|
| 0.120 | 0.9208 | 0.325 |
| 0.072 | 1.1427 | 0.374 |
| 0.048 | 1.3188 | 0.455 |
| 0.024 | 1.6198 | 0.589 |
| 0.012 | 1.9208 | 0.647 |

Tabelle 28.

Substrat: o-Kresol- β -d-galaktosid.

Relative Enzymmenge = 1/4.

| Substratkonzentration Mol | -log[S] | Spaltung (Gala- ktose-mg/ccm Probe) nach 422 Min. |
|------------------------------|---------|--|
| 0.120 | 0.9208 | 0.307 |
| 0.072 | 1.1427 | 0.383 |
| 0.048 | 1.3188 | 0.427 |
| 0.024 | 1.6198 | 0.577 |
| 0.012 | 1.9208 | 0.602 |

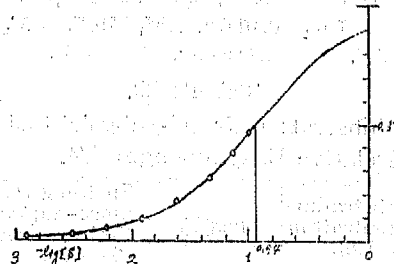


Fig. 21.

Aktivitäts-pS-Kurve (Tabelle 26).

| | | |
|--------|--------|-------|
| 0.006 | 2.2218 | 0.579 |
| 0.003 | 2.5229 | 0.384 |
| 0.0012 | 2.9208 | 0.146 |

$10^3 \cdot k = 1.640$, $Q_{0.012} = 1$, $K_{m1} = K_{m2} = 0.013335$,
 $K_{M1} = K_{M2} = 75$, $V_{\infty} = 0.0224 \text{ mg}$, $Q_{\infty} = 1$.

* Die Aktivitäts-pS-Kurve aus dieser Tabelle ist in Fig. 1. dargestellt.

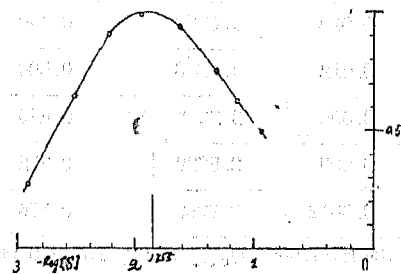


Fig. 22.

Aktivitäts-pS-Kurve (Tabelle 28).

| | | |
|--------|--------|-------|
| 0.006 | 2.2218 | 0.558 |
| 0.003 | 2.5229 | 0.331 |
| 0.0012 | 2.9208 | 0.171 |

10³.k=1.348, Q_{0.012}=0.82, Km₁=0.01318, Km₂=0.01479, KM₁=75.7, KM₂=67.7, V_∞=0.0668mg, Q_∞=0.81.

Tabelle 29.

Substrat: p-Kresol-β-d-galaktosid.
Relative Enzymmenge=1/4.

| Substratkonzentration Mol. | -log[S] | Spaltung (Galaktose-mg/ccm Probe) nach 398 Min. |
|----------------------------|---------|---|
| 0.120 | 0.9208 | 0.393 |
| 0.072 | 1.1427 | 0.444 |
| 0.048 | 1.3188 | 0.520 |
| 0.024 | 1.6198 | 0.622 |
| 0.012 | 1.9208 | 0.628 |
| 0.006 | 2.2218 | 0.553 |
| 0.003 | 2.5229 | 0.372 |
| 0.0012 | 2.9208 | 0.159 |

10³.k=1.500, Q_{0.012}=0.90, Km₁=0.00631, Km₂=0.05012, KM₁=158.5, KM₂=20.0, V_∞=0.044mg, Q_∞=0.53

Tabelle 30.

Substrat: p-Nitrophenol-β-d-galaktosid.
Relative Enzymmenge=1/5.

| Substratkonzentration Mol | -log[S] | Spaltung (Galaktose-mg/ccm Probe) nach 380 Min. |
|---------------------------|---------|---|
| 0.048 | 1.3188 | 0.375 |
| 0.024 | 1.6198 | 0.450 |
| 0.012 | 1.9208 | 0.500 |
| 0.006 | 2.2218 | 0.480 |
| 0.003 | 2.5229 | 0.372 |
| 0.0012 | 2.9209 | 0.175 |

10³.k=1.505, Q_{0.012}=0.92, Km₁=0.00462, Km₂=0.03385, KM₁=235, KM₂=30, V_∞=0.045mg, Q_∞=0.55.

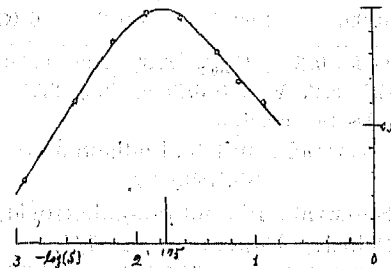


Fig. 23.

Aktivitäts-pS-Kurve (Tabelle 29).

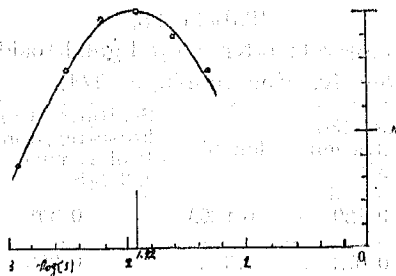


Fig. 24.

Aktivitäts-pS-Kurve (Tabelle 30).

Tabelle 31.

Substrat: p-Oxyacetophenon- β -d-galaktosid.
Relative Enzymmenge = 1/5.

| Substratkonzentration Mol. | $-\log[S]$ | Spaltung (Galaktose-mg/ccm Probe) nach 382 Min. |
|----------------------------|------------|---|
| 0.048 | 1.3188 | 0.415 |
| 0.024 | 1.6198 | 0.431 |
| 0.012 | 1.9208 | 0.544 |
| 0.006 | 2.2218 | 0.570 |
| 0.003 | 2.5929 | 0.593 |
| 0.0012 | 2.9209 | 0.171 |

$10^3 \cdot k = 1.65$, $Q_{0.012} = 1.00$, $Km_1 = 0.0266$,
 $Km_2 = 0.00266$, $KM_1 = 37.6$, $KM_2 = 3759$,
 $V_{\infty} = 0.230\text{mg}$, $Q_{\infty} = 2.8$.

Tabelle 32.

Substrat: Vanillin- β -d-galaktosid.
Relative Enzymmenge = 1/4.

| Substratkonzentration Mol | $-\log[S]$ | Spaltung (Galaktose-mg/ccm Probe) nach 365 Min. |
|---------------------------|------------|---|
| 0.072 | 1.1427 | 0.512 |
| 0.048 | 1.3188 | 0.560 |
| 0.024 | 1.6198 | 0.630 |
| 0.012 | 1.9208 | 0.624 |
| 0.006 | 2.2218 | 0.560 |
| 0.003 | 2.5229 | 0.336 |
| 0.0012 | 2.9209 | 0.096 |

$10^3 \cdot k = 1.628$, $Q_{0.012} = 0.99$, $Km_1 = 0.01679$,
 $Km_2 = 0.018841$, $KM_1 = 59.6$, $KM_2 = 53.1$,
 $V_{\infty} = 0.0812\text{mg}$, $Q_{\infty} = 0.99$.

Tabelle 33.

Substrat: Guajakol- β -d-galaktosid.
Relative Enzymmenge = 1/3.5.

| Substratkonzentration Mol | $-\log[S]$ | Spaltung (Galaktose-mg/ccm Probe) nach 350 Min. |
|---------------------------|------------|---|
| 0.072 | 1.1427 | 0.358 |

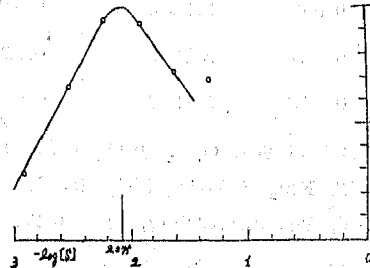


Fig. 25.
Aktivitäts-pS-Kurve (Tabelle 31).

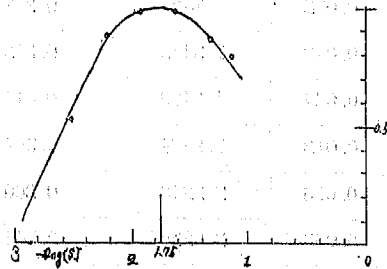


Fig. 26.
Aktivitäts-pS-Kurve (Tabelle 32).

| | | |
|--------|--------|-------|
| 0.048 | 1.3188 | 0.384 |
| 0.024 | 1.6198 | 0.395 |
| 0.012 | 1.9208 | 0.389 |
| 0.006 | 2.2218 | 0.310 |
| 0.003 | 2.5229 | 0.224 |
| 0.0012 | 2.9209 | 0.093 |

10³.k=0.861, Q_{0.012}=0.53, K_{m1}=0.005412, K_{m2}=0.11655, K_{M1}=184.8, K_{M2}=8.6, V_∞=0.02288mg, Q_∞=0.28.

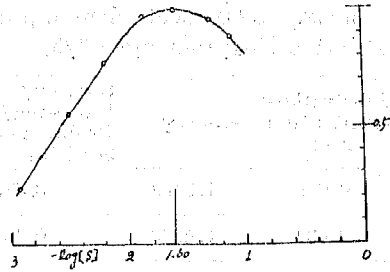


Fig. 27.

Aktivitäts-pS-Kurve (Tabelle 33).

F: Versuche mit dem Fermentpräparate von Taka-typ aus Schneckenhepatopankreas. Azidität des Reaktionsgemisches reguliert auf pH 2.8 anstatt 4.8.

Tabelle 34.

Substrat: Phenol-β-d-galaktosid.
Relative Enzymmenge=1.

| Substratkonzentration Mol | -log[S] | Spaltung (Galaktose-mg/ccm Probe) nach 980 Min. |
|---------------------------|---------|---|
| 0.120 | 0.9208 | 0.165 |
| 0.072 | 1.1427 | 0.247 |
| 0.048 | 1.3188 | 0.312 |
| 0.024 | 1.6198 | 0.415 |
| 0.012 | 1.9208 | 0.367 |
| 0.006 | 2.2218 | 0.260 |
| 0.003 | 2.5229 | 0.145 |
| 0.0012 | 2.9208 | 0.027 |

10³.k=0.0823, Q_{0.012}=1, K_{m1}=0.04315, K_{m2}=0.009226, K_{M1}=23.2, K_{M2}=108.4, V_∞=0.00936mg, Q_∞=1.

Tabelle 35.

Substrat: o-Kresol-β-d-galaktosid.
Relative Enzymmenge=1.

| Substratkonzentration Mol | -log[S] | Spaltung (Galaktose-mg/ccm Probe) nach 980 Min. |
|---------------------------|---------|---|
| 0.120 | 0.9208 | 0.176 |

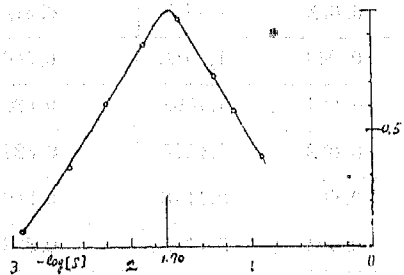


Fig. 28.

Aktivitäts-pS-Kurve (Tabelle 34).

| | | |
|--------|--------|-------|
| 0.072 | 1.1427 | 0.250 |
| 0.048 | 1.3188 | 0.300 |
| 0.024 | 1.6198 | 0.419 |
| 0.012 | 1.9208 | 0.382 |
| 0.006 | 2.2218 | 0.260 |
| 0.003 | 2.5229 | 0.131 |
| 0.0012 | 2.9208 | 0.035 |

$10^3 \cdot k = 0.0863$, $Q_{0.012} = 1.05$, $Km_1 = 0.04074$,
 $Km_2 = 0.00871$, $KM_1 = 24.5$, $KM_2 = 114.8$,
 $V_{\infty} = 0.00936\text{mg}$, $Q_{\infty} = 1$.

Tabelle 36.

Substrat: p-Kresol- β -d-galaktosid.
 Relative Enzymmenge = 1.

| Substratkonzentration Mol. | $-\log[S]$ | Spaltung (Galaktose-mg/ccm Probe) nach 1010 Min. |
|----------------------------|------------|--|
| 0.120 | 0.9208 | 0.211 |
| 0.072 | 1.1427 | 0.323 |
| 0.048 | 1.3188 | 0.395 |
| 0.024 | 1.6198 | 0.485 |
| 0.012 | 1.9208 | 0.461 |
| 0.006 | 2.2218 | 0.320 |
| 0.003 | 2.5229 | 0.209 |
| 0.0012 | 2.9208 | 0.045 |

$10^3 \cdot k = 0.103$, $Q_{0.012} = 1.25$, $Km_1 = 0.09268$, $Km_2 = 0.004295$, $KM_1 = 10.8$,
 $KM_2 = 233$, $V_{\infty} = 0.02036\text{mg}$, $Q_{\infty} = 2.18$.

Tabelle 37.

Substrat: p-Nitrophenol- β -d-galaktosid.
 Relative Enzymmenge = 1.

| Substratkonzentration Mol | $-\log[S]$ | Spaltung (Galaktose-mg/ccm Probe) nach 880 Min. |
|---------------------------|------------|---|
| 0.100 | 1.0000 | 0.150 |
| 0.072 | 1.1427 | 0.215 |
| 0.048 | 1.3188 | 0.288 |

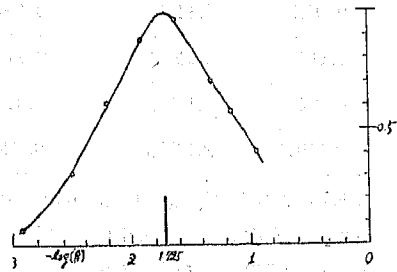


Fig. 29.

Aktivitäts-pS-Kurve (Tabelle 35).

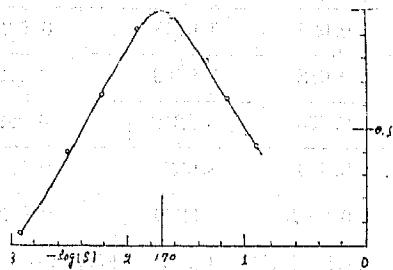


Fig. 30.

Aktivitäts-pS-Kurve (Tabelle 36).

| | | |
|--------|--------|-------|
| 0.024 | 1.6198 | 0.423 |
| 0.012 | 1.9208 | 0.395 |
| 0.006 | 2.2218 | 0.264 |
| 0.003 | 2.5229 | 0.125 |
| 0.0012 | 2.9208 | 0.010 |

$10^3 \cdot k = 0.100$, $Q_{0.012} = 1.22$, $Km_1 = 0.2754$,

$Km_2 = 0.00123$, $KM_1 = 3.6$, $KM_2 = 813$,

$V_{\infty} = 0.0620 \text{ mg}$, $Q_{\infty} = 6.6$

Tabelle 38.

Substrat: p-Oxyacetophenon- β -d-galaktosid.

Relative Enzymmenge = 1.

| Substratkonzentration Mol. | $-\log[S]$ | Spaltung (Galaktose-mg/ccm Probe) nach 1200 Min. |
|----------------------------|------------|--|
| 0.100 * | 1.0000 | 0.517 |
| 0.072 * | 1.1427 | 0.564 |
| 0.048 | 1.3188 | 0.568 |
| 0.024 | 1.6198 | 0.542 |
| 0.012 | 1.9208 | 0.418 |
| 0.006 | 2.2218 | 0.298 |
| 0.003 | 2.5229 | 0.154 |
| 0.0012 | 2.9209 | 0.052 |

$10^3 \cdot k = 0.0778$, $Q_{0.012} = 0.95$, $Km_1 =$

0.01462 , $Km_2 = 0.1462$, $KM_1 = 68.4$,

$KM_2 = 6.84$. $V_{\infty} = 0.0031$, $Q_{\infty} = 0.33$.

* Als Suspension.

Tabelle 39.

Substrat: Guajakol- β -d-galaktosid.

Relative Enzymmenge = 1.

| Substratkonzentration Mol. | $-\log[S]$ | Spaltung (Galaktose-mg/ccm Probe) nach 5210 Min. |
|----------------------------|------------|--|
| 0.0336 | 1.47366 | 0.120 |
| 0.024 | 1.6198 | 0.140 |
| 0.012 | 1.9208 | 0.170 |
| 0.006 | 2.2218 | 0.121 |
| 0.003 | 2.5229 | 0.06 |

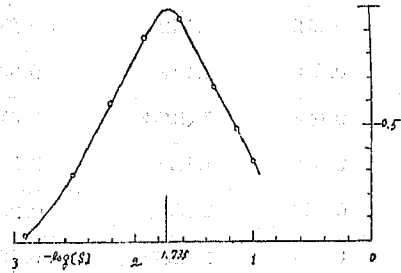


Fig. 31.

Aktivitäts-pS-Kurve (Tabelle 37).

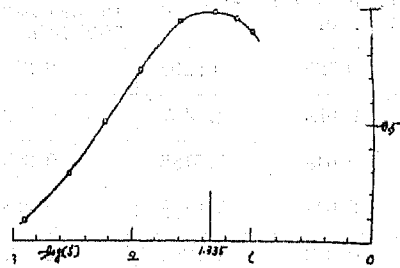


Fig. 32

Aktivitäts-pS-Kurve (Tabelle 38).

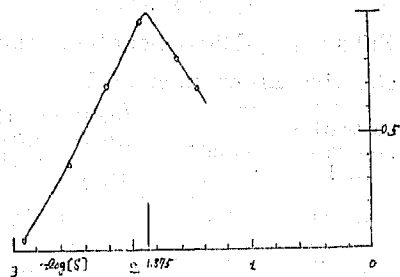


Fig. 33.

Aktivitäts-pS-Kurve (Tabelle 39).

| | | |
|--------|--------|-------|
| 0.0012 | 2.9208 | 0.006 |
|--------|--------|-------|

$10^3 \cdot k = 0.00695$, $Q_{0.012} = 0.085$, $Km_1 = 0.1333$, $Km_2 = 0.001333$, $KM_1 = 7.5$, $KM_2 = 750.2$, $V_{\infty} = 0.00298$, $Q_{\infty} = 0.32$.

Tabelle 40.

Substrat: Vanillin- β -d-galaktosid.
Relative Enzymmenge=1.

| Substratkonzentration Mol | $-\log[S]$ | Spaltung (Galaktose-mg/ccm Probe) nach 530 Min. |
|---------------------------|------------|---|
| 0.120 * | 0.9208 | 0.190 |
| 0.072 * | 1.1427 | 0.234 |
| 0.048 | 1.3188 | 0.266 |
| 0.024 | 1.6198 | 0.242 |
| 0.012 | 1.9208 | 0.184 |
| 0.006 | 2.2218 | 0.123 |
| 0.003 | 2.5229 | 0.070 |
| 0.0012 | 2.9208 | 0.011 |

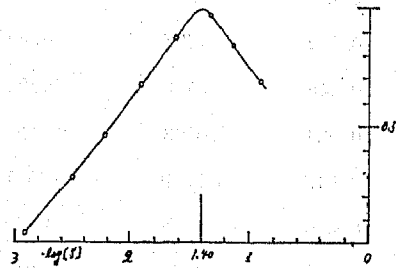


Fig. 34.

Aktivitäts-pS-Kurve (Tabelle 40).

$10^3 \cdot k = 0.0715$, $Q_{0.012} = 0.87$, $Km_1 = Km_2 = 0.03981$, $KM_1 = KM_2 = 25.1$, $V_{\infty} = 0.0624$ mg, $Q_{\infty} = 0.67$.

* Als Suspension.

G: Versuche mit dem Fermentpräparate aus *Aspergillus niger*.

Tabelle 41.

Substrat: Phenol- β -d-galaktosid.
Relative Enzymmenge=1.

| Substratkonzentration Mol | $-\log[S]$ | Spaltung (Galaktose-mg/ccm Probe) nach 1500 Min. |
|---------------------------|------------|--|
| 0.100 | 1.0000 | 0.244 |
| 0.072 | 1.1427 | 0.283 |
| 0.036 | 1.444 | 0.322 |
| 0.018 | 1.745 | 0.381 |
| 0.009 | 2.046 | 0.370 |
| 0.006 | 2.2218 | 0.320 |
| 0.003 | 2.5229 | 0.240 |

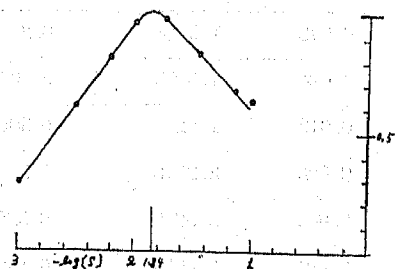


Fig. 35.

Aktivitäts-pS-Kurve (Tabelle 41).

| | | |
|-------|--------|-------|
| 0.001 | 3.0000 | 0.110 |
|-------|--------|-------|

10³. k = 0.0564, Q_{0.012} = 1, Km₁ = 0.04571,
Km₂ = 0.004571, KM₁ = 21.9, KM₂ = 218.
8, V_∞ = 0.001696mg, Q_∞ = 1.

Tabelle 42.

Substrat: o-Kresol-β-d-galaktosid.
Relative Enzymmenge = 1

| Substratkonzentration Mol | -log[S] | Spaltung (Galaktose-mg/ccm Probe) nach 2360 Min. |
|---------------------------|---------|--|
| 0.120 | 0.9208 | 0.520 |
| 0.072 | 1.1427 | 0.584 |
| 0.048 | 1.3188 | 0.624 |
| 0.024 | 1.6198 | 0.624 |
| 0.012 | 1.9208 | 0.571 |
| 0.006 | 2.2218 | 0.443 |
| 0.003 | 2.5229 | 0.313 |
| 0.001 | 3.0000 | 0.128 |

10³. k = 0.0666, Q_{0.012} = 1.18, Km₁ = 0.005957, Km₂ = 0.1884, KM₁ = 167.9, KM₂ = 5.3, V_∞ = 0.001472mg, Q_∞ = 0.87.

Tabelle 43.

Substrat: p-Kresol-β-galaktosid.
Relative Enzymmenge = 1.

| Substratkonzentration Mol | -log[S] | Spaltung (Galaktose-mg/ccm Probe) nach 1350 Min. |
|---------------------------|---------|--|
| 0.096 | 1.118 | 0.244 |
| 0.048 | 1.3188 | 0.270 |
| 0.024 | 1.6198 | 0.305 |
| 0.012 | 1.9208 | 0.306 |
| 0.006 | 2.2218 | 0.270 |
| 0.003 | 2.5229 | 0.220 |
| 0.001 | 3.0000 | 0.138 |

10³. k = 0.0493, Q_{0.012} = 0.88, Km₁ = 0.002213, Km₂ = 0.1245, KM₁ = 452, KM₂ = 8.0, V_∞ = 0.00118mg, Q_∞ = 0.70,

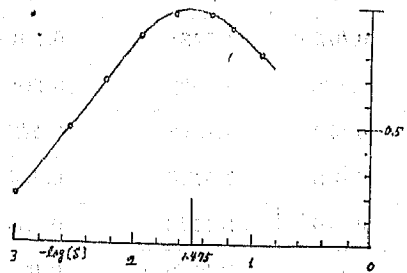


Fig. 36.

Aktivitäts-pS-Kurve (Tabelle 42).

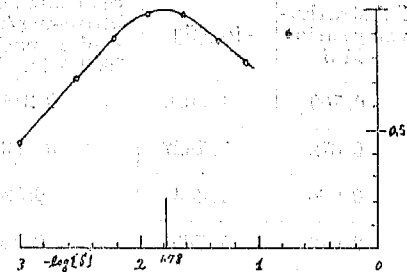


Fig. 37.

Aktivitäts-pS-Kurve (Tabelle 43).

LITERATUREN

- 1). S. Ezaki, J. Biochem. 32 (1940), 91 u. 107.
- 2). E. Fischer, Ber., 23 (1890), 2614.
- 3). J. B. S. Haldane u. K. G. Stern, Allgemeine Chemie der Enzyme (1932), 106.
- 4). B. Helferich u. Mitarbeitern, Zeit. Physiol. Chem., 208 (1932), 91.
- 5). B. Helferich, Ergeb. d. Enzymforsch., 2 (1933), 87; 7 (1938), 83.
- 6). K. Horikoshi, J. Biochem., 35 (1942), 39.
- 7). K. Kobayashi, J. Biochem. (Japanisch), 18 (1944), 41.
- 8). T. Miwa, C. Cheng, M. Fujisaki u. A. Toishi, Acta Phytochim., 10 (1937), 155.
- 9). T. Miwa, C. Cheng, A. Miwa, M. Fujisaki u. K. Outi, Sci. Rep. Tokyo Bunrika Daigaku, B. 6(1942), 11.
- 10). T. Miwa u. A. Miwa, Igaku to Seibutsugaku (Japanisch), 1(1942), 229.
- 11). T. Miwa u. A. Miwa, Ebenda, 2(1942), 398 u. 401.
- 12). T. Miwa, M. Fujisaki u. K. Ishizawa, Ebenda, 5(1944), 678.
- 13). L. Michaelis u. L. Menten, 49(1913), 333.
- 14). K. Nisizawa, Bull. Chem. Soc. Jap., 16(1941), 155.
- 15). K. Nisizawa, Sci. Rep. Tokyo Bunrika Daigaku, B. 6(1942), 29.
- 16). K. Nisizawa, Ebenda, B. 6(1942), 43.
- 17). Ruff u. Franz, Ber., 35(1902), 948.
- 18). Schell u. Tollens, Ber., 23(1890), 2990; Compt. rend. Acad. Sci., 127 (1898), 728.
- 19). Tollens, Ber., 23(1890), 2990; Ann., 271(1892), 74.
- 20). R. Willstätter u. R. Kuhn, Zeit. Physiol. Chem., 129(1923), 33.